

Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

Département des Productions Fruitières et Horticoles

Cirad-Flhor

BP 5035 - 34032 Montpellier cedex 1

## **Rapport de mission**

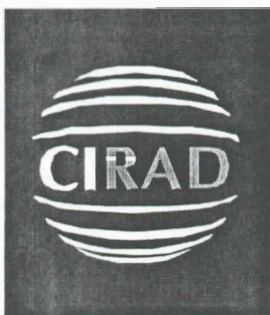
### **à Cuba**

*Perspectives de collaboration dans le domaine  
de la gestion des ressources génétiques et la  
création variétale chez les espèces fruitières*

du 30 avril au 7 mai 1999

**Patrick Ollitrault**  
*Programme Arboriculture Fruitière*





Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

Département des Productions Fruitières et Horticoles

Cirad-Flhor

BP 5035 - 34032 Montpellier cedex 1

# Rapport de mission

## à Cuba

*Perspectives de collaboration dans le domaine  
de la gestion des ressources génétiques et la  
création variétale chez les espèces fruitières*

du 30 avril au 7 mai 1999

**Patrick Ollitrault**  
*Programme Arboriculture Fruitière*





# Sommaire

1. Avant propos .....	3
2. Chronogramme .....	4
3. Organismes visités et personnes rencontrées .....	5
4. Activités des trois centres visités dans le domaine de l'amélioration des espèces fruitières et axes de coopérations potentielles identifiés.....	8
4.1. Centre Bioplantas .....	8
4.1.1. Principales activités sur les espèces fruitières.....	8
4.1.2. Domaines de collaborations potentielles identifiés .....	9
4.2. Instituto de Biotecnologia de las plantas (IBP) .....	10
4.2.1. Principales activités sur les espèces fruitières.....	11
4.2.2. Domaines de collaborations potentielles identifiés .....	11
4.3. Instituto de Investigaciones en Citricos y otros Frutales .....	12
4.3.1. Principales activités en amélioration des plantes .....	13
4.3.2. Perspectives de collaborations .....	14
Liste des annexes.....	18

## 1. Avant propos

---

Cette mission fait suite au stage de Mme Olga Mas Camacho de l'IICF financé dans le cadre des bourses du Cirad formation pour chercheur hors champ. L'objectif principal était de concrétiser les volontés respectives de collaborer dans le domaine de l'amélioration des espèces fruitières par le dépôt d'un projet de coopération bilatéral franco-cubain sur la création des porte-greffe d'agrumes, et de définir plus précisément les autres domaines de coopération envisageables.

Cette mission a par ailleurs permis de visiter deux autres centres de recherche impliqués dans les biotechnologies sur les espèces fruitières (le Centre Bioplasmas à Ciego de Avila et l'Instituto de Biotecnologia de las Plantas -IBP- à Santa Clara) et d'identifier des possibilités de collaborations respectivement sur l'ananas et sur le papayer.

Je tiens à remercier l'ensemble des collègues cubains pour leur accueil et leur disponibilité à l'occasion des visites de laboratoires. Je remercie tout particulièrement les Dr Carlos Borroto, Juan Perez Ponce et Maria del Carmen Perez respectivement directeur du centre Bioplasmas, de l'IPB et de l'IICF, pour m'avoir reçu dans leurs organismes et pour l'appui logistique apporté à l'occasion de cette mission. Mme Olga Mas Camacho a parfaitement organisé l'ensemble de cette mission et m'a accompagné pour l'ensemble des déplacements ; qu'elle reçoive ici l'expression de toute ma gratitude.

## 2. Chronogramme

---

### *Vendredi 30 avril*

Départ de pointe à Pitre à 20 h

### *Samedi 1 mai*

Arrivée à la Havane le 1 mai à 01h00

Départ pour Ciego de Avila à 10h00, arrivée à 17h00

### *Dimanche 2 mai*

Journée libre

### *Lundi 3 mai*

Matinée : Visite du centre Bioplasmas  
Déjeuner avec Dr Miriam Isidron et Olga Mas Camacho  
Après-midi : Discussions sur les possibilités de collaboration sur l'ananas  
Visite de l'entreprise Pina  
Dîner avec le Dr Carlos Borroto et Olga Mas Camacho

### *Mardi 4 mai*

Matinée : Départ pour Santa Clara à 07h30, arrivée à 10h00  
Visite de l'IBP : présentation des programmes de recherche  
Déjeuner avec Juan Pérez Ponce et Olga Mas Camacho  
Après-midi : Discussion sur les possibilités de collaboration sur le papayer  
Départ pour la Havane à 16h00

### *Mercredi 5 mai*

Matinée : Présentation des programmes de recherche de l'IICF  
Entretien avec Mme Hilda Aguilera (direction des relations internationales du ministère de l'agriculture)  
Déjeuner avec le Dr Narciso Nerdo Rodriguez et Olga Mas Camacho  
Après-midi : Présentation du programme français d'amélioration des agrumes  
Préparation d'un article pour la revue du RIAC sur l'intérêt des biotechnologies pour la gestion et l'exploitation des ressources génétiques

### *Jeudi 6 mai*

Matinée : Présentation d'un master sur la cryoconservation d'apex d'agrumes  
Discussions sur les possibilités de collaboration sur les agrumes, le papayer, l'avocatier et le goyavier  
Déjeuner avec Dr Maria Eugenia Garcia et Olga Mas Camacho  
Après midi : Finalisation du projet bilatéral de création de nouveaux porte-greffe

### *Vendredi 7 mai*

Entretien à l'ambassade de France avec Mr Arnaud Peral du service de coopération technique et culturel  
Entretien de conclusion et déjeuner avec Dr Maria del Carmen Pérez, Arnaldo Correa Martinez et Olga Mas Camacho  
Départ pour Pointe à Pitre à 15h00

### 3. Organismes visités et personnes rencontrées

---

#### Centre Bioplintas

*Adresse :*

Centro de Bioplintas  
Universidad de Ciego de Avila  
Carretera a Moron km 91/2  
Ciégo de Avila, CP 69450  
Cuba  
Tel/fax : 537 335040

*Personnes rencontrées :*

Dr Carlos Borroto (cborroto@ceniai.inf.cu) : directeur  
Dr Miriam Isidron Pérez (misidron@bioca.edu.cu) : sous directrice Sciences et techniques  
Ing. Reynerio Benegas : génétique et haplométhodes ananas  
Ing. Marcos Martinez : cryoconservation ananas  
Ing. Elisabeth Arias : marqueurs moléculaires  
Ing. Patricia Espinosa : Transformation génétique  
Dr Maritze Escalona : micropropagation ananas (SIT)  
Dr Marcos Daquinta : Propagation ananas et plantes ornementales

#### IBP

*Adresse :*

Instituto de biotecnologia de las plantas  
Carretera a Camajuani, km 5 ½  
Santa Clara  
Villa Clara  
Cuba  
Fax : 53 422 81329  
Email : perez@ibp.edu.cu

*Personnes rencontrées :*

Dr Juan Perez Ponce : directeur  
Ing. Daniel Agramonte : responsable du laboratoire micropropagation  
Ing. Niurka Meneses : biochimiste et biologie moléculaire



## IICF

### *Adresse :*

Instituto de Citricos y otros Frutales  
Ave 7ma, 3005 entre 30 y 32, Miramar Playa,  
La Habana 11300  
Tel : (53-7) 22 5526  
Fax : (53-7) 24 6794  
Email : [iicit@ceniai.inf.cu](mailto:iicit@ceniai.inf.cu)

### *Personnes rencontrées :*

Dr Maria del Carmen Pérez : directrice  
Dr Maria Eugenia Garcia : sous-directrice sciences et techniques (p.i.)  
Dr Narciso Nerdo Rodriguez : responsable du groupe amélioration et ressources génétiques  
Ing. Arnaldo Correa Martinez : asesor de direction  
Olga Mas Camacho : responsable des relations extérieures  
Gonzalo Gonzales : sélection des arbres fruitiers  
Locky Batista : biochimiste responsable du groupe de virologie  
Raixa Liauger : biochimiste, biologie moléculaire

## Empressa pina

### *Adresse :*

Carretera al Central Venezuela km. 6  
Ciego de Avilla  
Prov. Ciego de Avila  
Cuba

### *Personnes rencontrées :*

Mr Nelson Hernandez : directeur  
Mr Quintin Dominguez : responsable de l'exploitation

## Ambassade de France

### *Adresse :*

Calle 14 n° 312 entre 3ra y 5ta  
Miramar  
La Habana  
Cuba  
Tel : 537 242132 / 23.08  
Fax : 537 241439

***Personne rencontrée :***

Mr Arnaud Peral : attaché culturel adjoint pour la coopération scientifique et technique

<b>Ministère de l'agriculture</b>
-----------------------------------

***Adresse :***

Ministerio de la agricultura  
Avenida de la Independencia y Conill  
Nuevo Vedado, Municipio Plaza  
La Habana, C.H.  
Cuba

***Personne rencontrée***

Mme Hilda Aguilera : Direction des relations internationales

## 4. Activités des trois centres visités dans le domaine de l'amélioration des espèces fruitières et axes de coopérations potentielles identifiés

---

L'intégration des activités des universités, des centres de biotechnologie et des Biofabricas (unités industrielles de production de vitroplants) est remarquable et permet une appropriation très rapide des avancées de la recherche par le développement. L'adoption du système de culture en immersion temporaire (le SIT) est à ce titre très significative. Ce système développé il y a quelques années par le Cirad (RITA) a été adapté aux contraintes de la production de masse et est aujourd'hui intégré au schéma de production des Biofabricas. Les contraintes économiques fortes ont par ailleurs conduit les Biofabricas vers des voies originales que les cubains exportent aujourd'hui dans divers pays d'Amérique latine : salles de culture climatisées avec éclairage naturel ; suppression de l'autoclavage des milieux par adjonction de produits bactéricides et fongicides (G1)... L'investissement fort du pays dans les biotechnologies, les ressources humaines très importantes dans le domaine de la recherche, l'approche très finalisée et intégrée des activités de recherche et de développement ('Investigaciones aplicadas desde el laboratorio hasta el campo'), ainsi que la volonté politique marquée d'être très présent dans la coopération régionale (LAC), font de Cuba un partenaire de choix dans le domaine de l'amélioration des plantes.

Les visites réalisées à Bioplintas, à l'IBP et à l'IICF et les présentations respectives des programmes de recherche ont fait ressortir une bonne complémentarité entre les travaux des instituts cubains et ceux du Cirad-Flhor. D'une manière générale, les premiers disposent d'une très bonne maîtrise des techniques *in vitro* (micropropagation, systèmes d'immersion temporaire, transformation génétique), tandis que le Cirad possède des acquis importants dans le domaine de l'analyse du génome qui reste peu développé à Cuba, mais pour lequel un fort intérêt a été manifesté par les interlocuteurs cubains.

### 4.1. Centre Bioplintas

#### 4.1.1. Principales activités sur les espèces fruitières

Le centre Bioplintas est rattaché à l'Université de Ciego de Avila et entretient des liens très étroits avec la Biofabricas implantée sur le même campus qui produit surtout des vitroplants d'ananas, de bananiers, de canne à sucre et de plantes ornementales (cf plaquette de présentation de Bioplintas en annexe 1).

#### Ananas :

- Micropropagation ; SIT
- Production de métabolites secondaires (broméline) en fermenteurs ou SIT
- Transformation génétique (agrobactérium sur feuilles ou cals)
  - ➔ objectif résistance à la fusariose (gènes de chitinases)
- Cryoconservation d'apex
- Androgenèse



- Hybridation sexuée
- Interaction hôtes/pathogènes (Fusariose, Phytophthora, Wilt : isolement du virus  
→ anticorps monoclonaux et travaux sur le gène de la capsid)

#### Citrus :

- Transformation génétique des Citrus (agrobactérium sur microboutures)  
→ objectif résistance à la Tristeza (gène de capsid)

#### 4.1.2 Domaines de collaborations potentielles identifiés

Ils concernent l'ananas avec un intérêt du Cirad-Flhor pour les travaux de Bioplasmas sur l'androgénèse et la cryoconservation d'apex et une demande d'appui de Bioplasmas pour les techniques d'analyse du génome (cytométrie en flux et marqueurs moléculaires) développées par le Cirad-Flhor.

#### Haplométhodes ananas :

Mr Reynerio Bénégas termine sa thèse de doctorat (soutenance en décembre 1999) sur l'application des haplométhodes à l'ananas.

Dans ce cadre, il a développé les travaux suivants :

- androgénèse (culture d'anthères),
- culture d'ovules non fécondés,
- croisements éloignés (pollinisation avec *Tillandsia fasciculata sw.*),
- pollinisation avec du pollen irradié.

Plus de 2000 plantes ont été régénérées par ces différentes techniques, mais seule la ploidie de 80 d'entre elles a pu être analysée par comptage chromosomiques. 12 plantes se sont avérées haploïdes.

Ces premiers résultats ouvrent des perspectives très prometteuses pour l'analyse de l'hérédité des caractères sélectionnés chez l'ananas. Ce dernier domaine apparaît important dans l'hypothèse où le Cirad-Flhor se réengage dans la création variétale ananas et constitue en tout état de cause la suite logique des travaux de caractérisation des ressources génétiques (qui doit permettre à terme de raisonner la gestion et l'exploitation des ressources génétiques au niveau des gènes eux-mêmes). Bioplasmas pour sa part est très intéressé par l'expertise du Cirad-Flhor dans le domaine de l'analyse du génome (cytométrie en flux et marqueurs moléculaires).

Il apparaît ainsi qu'un rapprochement des deux organismes permettant d'associer les expertises dans le domaine des haplométhodes et de l'analyse du génome pourrait conférer à ce programme de coopération un rôle de premier plan dans le domaine de la génétique ananas.



Une première action a été envisagée à court terme pour engager la collaboration : Mr Reynerio Bénégas pourrait effectuer un stage de deux semaines en Guadeloupe, en septembre 1999, pour caractériser à l'aide de la cytométrie en flux et de marqueurs isozymes environ 200 plantes régénérées.

Ceci afin :

- pour la partie cubaine : d'étoffer l'analyse des taux de plants haploïdes obtenus suivant les différentes techniques et d'analyser l'origine (somatique ou haploïde doublé) des plants diploïdes.
- pour la partie française : d'évaluer la réelle efficacité des haplométhodes développées et donc l'intérêt d'établir une collaboration à plus long terme avec Bioplasmas dans ce domaine.

Il a été envisagé que Bioplasmas finance le voyage et le Cirad-Flhor le fonctionnement et une bourse de stage.

Le directeur de Bioplasmas est favorable à ce qu'ensuite la collaboration puisse s'établir dans le cadre d'un post-doc de Mr Reynerio Bénégas dans les laboratoires du Cirad (à partir de mi ou fin 2000).

### **Cryoconservation d'apex :**

Le centre Bioplasmas a participé aux travaux sur la cryoconservation d'apex d'ananas en collaboration avec le CNIC et l'IPGRI. Cette technique qui doit encore être optimisée présente un intérêt certain pour la conservation à long terme de l'ensemble du germoplasme actuellement géré au champ par le Cirad-Flhor Martinique. La cryopréservation des accessions permettrait en effet d'alléger considérablement le coût de conservation de ce patrimoine. Le développement d'une telle stratégie de conservation serait par ailleurs en phase avec le pôle conservation *in vitro* / cryoconservation affiché dans le cadre de la plateforme Inra-Cirad Guadeloupe.

Mr Marcos Martinez Montero, qui est en charge du projet cryoconservation ananas pour Bioplasmas, sera présent au congrès sur la cryopréservation organisé à Marseille en Juin 1999 et souhaiterait à cette occasion prendre contact avec Mr C. Teisson.

Les deux axes présentés ci-dessus pourraient sans doute être inclus dans un projet européen sur la gestion et l'exploitation des ressources génétiques ananas destiné à prendre le relais de l'actuel projet INCO.

## **4.2. Instituto de Biotecnologia de las plantas (IBP)**

L'IBP est rattaché à l'Université Central de Las Villas (Santa Clara). Il développe en amont les méthodes de propagation de masse utilisées par la Biofabricas qui y est associée. L'IBP développe également de nouveaux cultivars de pomme de terre, de canne à sucre, de bananier et de papayer. Les principales productions de la Biofabricas de Santa Clara sont la pomme de terre (1 million de plants par an), la canne à sucre et le bananier (cf plaquette de l'IBP en annexe 2).

#### 4.2.1. Principales activités sur les espèces fruitières

##### Papayer :

- Micropropagation
- Transformation génétique : agrobacterium sur microboutures  
→ objectif : résistance au Ringspot Virus (gène de capsid)
- Développement d'hybrides F1 multipliés par micropropagation *in vitro* (60 F1 entre Maradol et différents parents)

##### Bananier :

- Micropropagation (SIT)
- Recherche de cultivars résistants à la cercosporiose noire avec 2 approches :
  - . mutagenèse et sélection *in vitro* avec filtrat de cercosporiose
  - . transformation génétique avec agrobacterium (glutanase, chitinase, AP24)
- Sélection de somaclones de Gros Michel résistants au Fusarium (6 lignées résistantes au champ, sélectionnées à partir de 17000 somaclones)

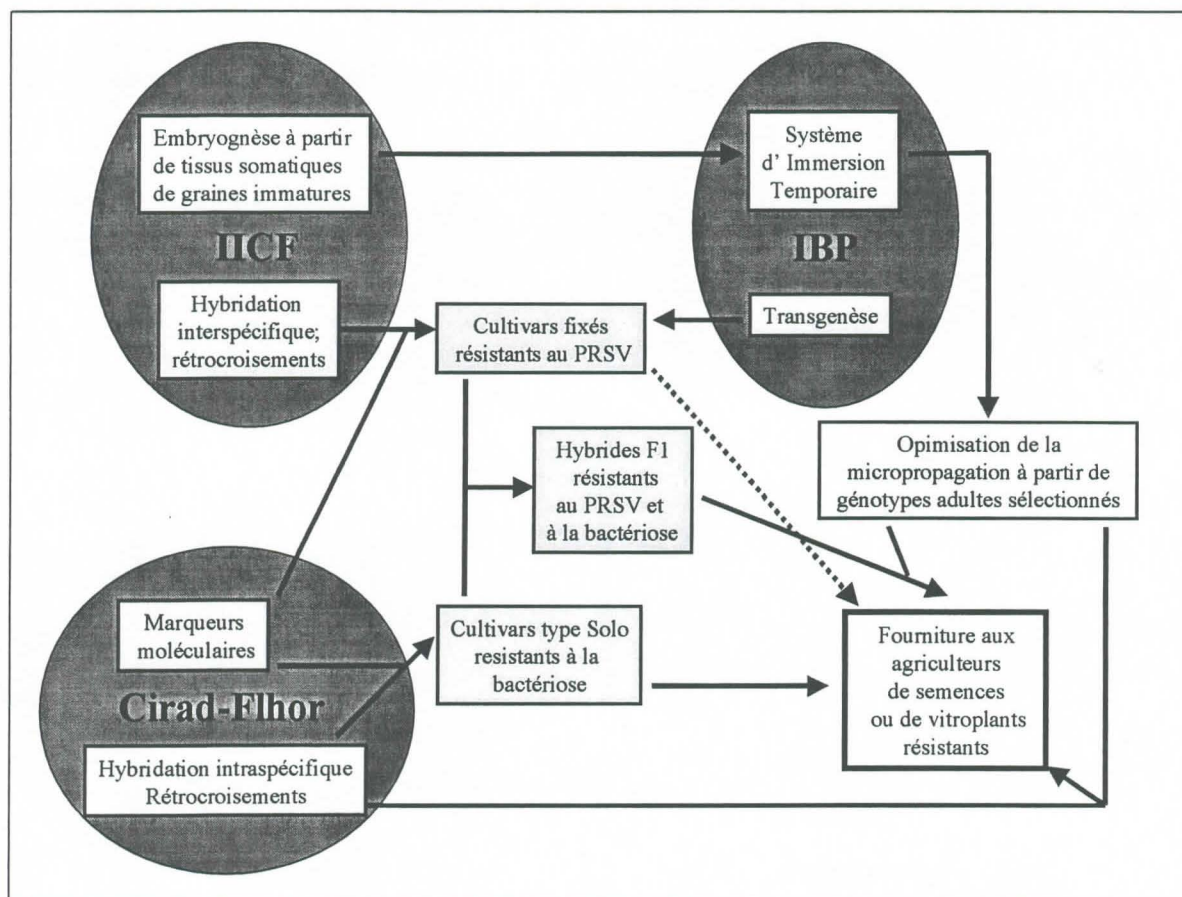
#### 4.1.2. Domaines de collaborations potentielles identifiés

Les discussions sur les possibilités de collaboration ont porté sur l'amélioration et la micropropagation des papayers.

La maîtrise de la régénération *in vitro* des papayers que possède l'IBP ouvre la voie à la valorisation directe de tous les génotypes quel que soit leur niveau d'hétérozygotie, et offre donc la possibilité d'avoir des sorties variétales vers le développement à n'importe quelle étape d'un schéma d'amélioration. Le transfert en Guadeloupe de ces techniques de propagation serait ainsi particulièrement intéressant dans le cadre du projet du Cirad-Flhor de création de variétés de papayers desserts résistants à la bactériose.

Par ailleurs, les travaux sur la résistance au Ringspot Virus par transformation génétique avec des gènes de capsid pourraient déboucher sur la sélection de variétés résistantes aux souches caribéennes de ce virus (des travaux équivalents réalisés à Hawaï ont permis d'obtenir des variétés résistantes aux souches de virus hawaïennes, mais la résistance conférée par cette stratégie s'avère très spécifique et les variétés hawaïennes sont sensibles aux souches de ringspot virus des Caraïbes). Il apparaît à terme très important pour la région Caraïbe d'associer les résistances à la bactériose et au Ringspot virus dans une même variété. Il a ainsi été envisagé qu'à l'issue des programmes engagés par l'IBP et le Cirad-Flhor (création de variétés de type 'Maradol' résistantes au ringspot virus à l'IBP et de variétés de type 'Solo' résistantes à la bactériose au Cirad-Flhor), soient créées des variétés hybrides entre les obtentions résistantes de chaque organisme (les hybrides F1 créés par l'IBP entre Maradol et Solo standards présentent en effet des caractéristiques qualitatives et agronomiques intéressantes).





**Figure 1 :** possibilités de collaborations entre l'IBP, l'IICF et le Cirad-Flhor pour le développement et la propagation de cultivars de papayers résistants au Ringspot Virus et à la Bactériose

Ces perspectives sont reprises dans un projet plus global sur papayer associant l'IBP, l'IICF et le Cirad-Flhor (Figure 1) qui pourrait servir de base à l'établissement d'un projet Européen.

#### 4.3. Instituto de Investigaciones en Citricos y otros Frutales

L'IICF est né de la fusion entre l'Instituto de investigaciones en Citricos (IICIT) et l'Instituto de Investigaciones en Frutales. Cet institut, construit autour d'une approche filière, développe des études amont dans le cadre d'une démarche prospective. Sa mission est ainsi de fournir les bases scientifiques et techniques pour atteindre la durabilité et la compétitivité de l'agro-industrie fruitière cubaine. La recherche est structurée au sein de 9 groupes dont 3 sont impliqués dans la formation diplômante :

- Phytotechnie : 4 chercheurs
- Génétique et amélioration des plantes : 5 chercheurs
- Physiologie végétale : 4 chercheurs
- Virologie : 7 chercheurs
- Bactériologie : 2 chercheurs
- Mycologie : 2 chercheurs
- Ecologie et environnement : 6 chercheurs

- Post-récolte : 3 chercheurs
- Chimie : 4 chercheurs

#### **4.3.1. Principales activités en amélioration des plantes**

##### **Agrumes :**

- Assainissement, certification et multiplication de matériel végétal
- Adaptation variétale
- Sélection de porte-greffe
- Micropropagation *in vitro* de porte-greffe
- Cryoconservation d'apex

##### **Avocatier :**

- Germoplasme : 150 variétés
- Prospection de matériel local
- Sélection (résistance au phytophthora : Duke 7 du Mexique)
- Etalement de la production (période couverte : juillet à avril)
- Micropropagation de porte-greffe (précédée de microgreffage pour rejuvénation)
- Sauvetage d'embryons *in vitro*

##### **Goyavier :**

- Germoplasme : 110 accessions
- Sélection de variétés naines (hybridation entre géotypes nains et normaux  
→ recherche de variétés naines produisant des fruits homogènes pour l'industrie)
- Projet de création de variétés aspermes pour le marché du fruit frais

##### **Papayer :**

- Micropropagation à partir de matériel juvénile
- Projet de programme d'hybridation interspécifique pour l'introggression de la résistance au Ringspot Virus chez *Carica papaya*.

##### **Manguier :**

- Germoplasme : 258 accessions

##### **Fruitiers divers :**

- Collection (cf liste en annexe 3)



#### 4.3.2. Perspectives de collaborations

La directrice de l'IICF, Dr Maria Carmen del Pérez, dirige deux réseaux régionaux sous l'égide de la FAO : Red Interamericana de Citricos (RIAC = IACNET) et Red Latinoamericana de Frutales (RELAFRUT). L'IICF joue à ce titre un rôle central dans beaucoup d'initiatives de coopérations régionales sur les arbres fruitiers et en particulier dans le domaine de la certification des agrumes (cf projet PGTF en annexe 4) et la lutte intégrée. Cet institut apparaît ainsi incontournable pour toute action de recherche développement régionale en réseau sur les agrumes dans la mesure où il paraît essentiel que les interventions de la France soient en phase avec ces réseaux internationaux et s'appuient sur leurs dynamiques. Dans ce cadre, le Dr Maria Del Carmen Pérez s'est montré très intéressé par la proposition de montage d'un projet FAC pour la promotion d'une agrumiculture durable dans les Caraïbes. Un projet bilatéral a par ailleurs été soumis à l'Ambassade de France pour la création et la sélection de porte-greffe d'agrumes adaptés aux contraintes de la région. Des possibilités d'appui du Cirad-Flhor pour les techniques d'analyse du génome dans le cadre de programmes de caractérisation du germoplasme ou de manipulation de la ploïdie de l'IICF ont également été identifiées pour le manguier, l'avocatier, le goyavier et le papayer. Un article sur l'intérêt des biotechnologies pour la gestion et la valorisation des ressources génétiques agrumes a par ailleurs été corédigé pour le prochain numéro de la revue du RIAC consacré aux ressources génétiques (annexe 5).

#### Projet FAC 'Promotion d'une agrumiculture durable dans la Caraïbe' :

Le contexte phytosanitaire de l'agrumiculture caribéenne s'est considérablement aggravé ces dernières années avec en particulier la dispersion de la Tristeza (maladie virale) et du *Diaphorina citri* (vecteur du Greening) sur l'ensemble de l'archipel, mais aussi l'apparition de la mineuse des agrumes et de la cochenille rose de l'hibiscus (*Maconellicoccus hirsutus*) dans de nombreuses îles. La Tristeza remet en cause la viabilité de l'essentiel des vergers greffés sur bigaradier et va entraîner une reconversion importante des vergers dans les années à venir. Celle-ci devra s'appuyer sur des porte-greffe résistants à cette maladie et la production de plants sains garantis par des schémas de certification nationaux. Cette reconversion doit également être l'occasion de renouveler la gamme variétale afin d'améliorer la qualité des fruits et d'étaler les périodes de production. S'il est clair que la qualité du matériel végétal est un élément clef pour une agrumiculture durable, il est également évident qu'il est nécessaire de promouvoir une approche régionale globale pour une lutte intégrée efficace sur l'ensemble de l'archipel face à la très grave menace que fait planer la présence du *Diaphorina citri* et les dégâts importants causés par la mineuse ou la cochenille de l'hibiscus. La gestion agronomique des vergers doit également être prise en compte en particulier pour ce qui concerne l'érosion et la limitation des traitements herbicides pour lesquels l'utilisation de plantes de couverture doit contribuer à l'élaboration de productions plus respectueuses de l'environnement.

Ces différents aspects sont pris en compte dans le cadre des projets CPER pour la diversification fruitière dans les Antilles françaises et font partie des préoccupations essentielles du RIAC. Le projet FAC envisagé devrait ainsi permettre au Cirad-Flhor de valoriser régionalement les travaux engagés dans les Antilles françaises en concordance et complémentarité des actions du RIAC.

Les compétences de l'Inra Guadeloupe dans le domaine de la lutte biologique et de l'Inra Bordeaux pour le dépistage du greening devraient également être mobilisées.

Ce projet devrait associer :

- Cuba,
- la République Dominicaine,
- les Antilles françaises,
- éventuellement Haïti et la Guyane (les partenaires cubains insistent en effet sur la participation d'Haïti au projet),

et aborder 4 axes principaux :

- mise en place de schémas de certification nationaux,
- sélection variétale (cultivars et porte-greffe),
- lutte intégrée,
- gestion agronomique du verger.

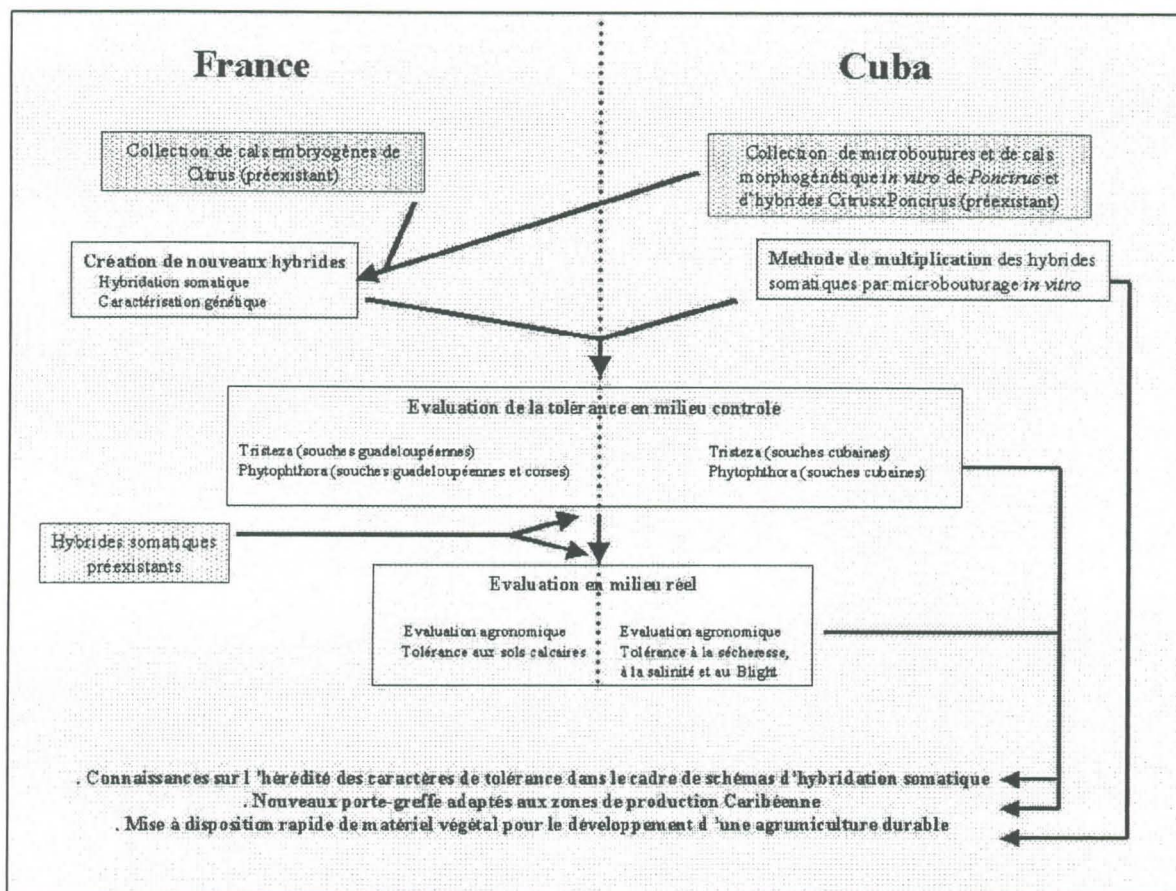
Ces axes d'actions répondant à des contraintes agronomiques clairement identifiées pour l'ensemble de la Caraïbe devraient également être appuyés par un bilan socio-économique des filières agrumes dans les différents pays partenaires, réalisé à l'occasion de missions d'expertise. L'association d'Haïti au projet pourrait également se faire sous la forme d'une mission d'expertise visant à établir l'état agronomique et socio-économique de l'agrumiculture dans ce pays afin de poser les bases d'actions de développement à l'issue du présent projet. Le projet pourrait financer un poste de phytopathologiste dans les Antilles françaises. Une lettre d'intention doit être adressée à l'Ambassade de France avant l'été et le projet détaillé devrait être élaboré en début d'automne 1999.

**Projet Bilatéral 'Création par hybridation somatique et sélection de nouveaux porte-greffe d'agrumes tolérants aux contraintes biotiques et abiotiques pour la promotion d'une agrumiculture durable dans les Caraïbes' :**

Le projet détaillé est donné en annexe 6 et synthétisé dans la figure 2. Il doit permettre d'associer les compétences du Cirad-Flhor et de l'IICF dans le domaine des biotechnologies agrumes pour créer et multiplier de nouveaux hybrides somatiques. L'évaluation dans les deux pays permettra de confronter les hybrides somatiques à différentes souches de pathogènes (*Phytophthora* sp, virus de la Tristeza) et à des maladies non présentes sur le dispositif du Cirad-Flhor (Blight). Cette évaluation multilocale permettra également de tester le comportement de ces nouveaux porte-greffe dans différents contextes pédoclimatiques.

Pour la partie française, le financement demandé à l'Ambassade de France couvre essentiellement les voyages de chercheurs français à Cuba et les stages (voyages, bourses et fonctionnement du laboratoire) des chercheurs cubains en Guadeloupe pour la création de nouveaux hybrides somatiques.





**Figure 2 :** Organisation des activités du projet bilatéral pour la création de nouveaux porte-greffe d'agrumes

### Introgression chez *Carica papaya* des gènes de résistance au Ringspot Virus par un programme d'hybridation interspécifique :

L'IICF projette de relancer un programme d'introgression dans *Carica papaya* du caractère de résistance au Ringspot Virus présent chez certaines espèces du genre *Carica*. Ces résistances apparaissent beaucoup plus stables que celles conférées par le transfert de gènes de capsides, mais un tel programme d'introgression requiert de nombreux cycles de sélection pour obtenir des cultivars commerciaux. Il apparaît par ailleurs très pertinent d'appuyer un tel programme par de la sélection assistée par marqueurs moléculaires.

Il a été proposé que le Cirad-Flhor apporte son appui au programme pour le volet moléculaire. Par ailleurs, *in fine*, des génotypes associant résistance au Ringspot Virus et à la Bactériose pourraient être créés par hybridation entre les génotypes résistants à la bactériose sélectionnés par le Cirad-Flhor et ceux résistants au Ringspot. Ces perspectives sont reprises dans le projet global sur papayer associant l'IBP, l'IICF et le Cirad-Flhor (Figure 1).

## **Création de variétés de goyaviers sans pépins :**

L'IICF est intéressé par le développement des variétés de goyaviers sans pépins pour le marché du fruit frais. Certains indices suggèrent que l'aptitude à la parthénocarpie est présente chez cette espèce. Dans ce contexte, le développement de cultivars triploïdes paraît prometteur. Il a été envisagé d'engager un programme commun dans ce domaine qui comprendrait les étapes suivantes :

- doublement du stock chromosomique de quelques variétés par traitement à la colchicine (Cuba),
- analyse par cytométrie en flux des niveaux de ploïdie du matériel obtenu à Cuba et sélection des plantes tétraploïdes (Guadeloupe),
- réalisation d'hybridations sexuées entre génotypes diploïdes et tétraploïdes pour la synthèse d'hybrides triploïdes (Cuba et Guadeloupe),
- sélection au champ (Cuba et Guadeloupe).

Une convention doit être établie entre les deux organismes afin de préciser le déroulement des opérations, la propriété intellectuelle et les modalités de valorisation des obtentions variétales.

## **Caractérisation de la diversité du germoplasme (manguier, avocatier) :**

Pour ces deux espèces, les activités de l'IICF et du Cirad-Flhor dans les Antilles, sont voisines (conservatoire, sélection adaptative et prospection pour l'avocatier). Des échanges d'informations sur les méthodologies de prospection, d'évaluation et de conservation du matériel sont souhaitables. Des échanges de matériel végétal ont également été envisagés. Par ailleurs, le Cirad-Flhor pourrait apporter son appui pour la formation aux techniques d'analyses enzymatiques sur ces deux espèces en vue d'analyser la diversité des collections.



- Annexe 1 :** Plaquette de présentation du centre Bioplintas
- Annexe 2 :** Plaquette de présentation de l'IBP
- Annexe 3 :** Liste du germoplasme de fruitiers tropicaux de l'IICF
- Annexe 4 :** Projet régional "Proyectos de certificación de citricos en America Central y el Caribe con la asesoria y asistencia tecnica del IICF de Cuba". Projet soumis au "Perez-Guerrero trust fund for economic and technical cooperation among developing countries"
- Annexe 5 :** Texte de l'article à paraître dans la revue du RIAC  
"Los recussos geneticos de citricos y la biotecnologia"
- Annexe 6 :** Projet bilatéral de coopération 'Création par hybridation somatique et sélection de nouveaux porte-greffe d'agrumes tolérants aux contraintes biotiques et abiotiques pour la promotion d'une agrumiculture durable dans les Caraïbes'

**Plaquette de présentation du centre Bioplintas**



Affiliated to the Cuban Ministry of Higher Education, the Center carries out its scientific work organized in six laboratories:

Plant Biochemistry and Immunochemistry, Plant Cell and Tissue Culture, Plant Genetics, Plant Pathology, Plant Production Technology, and Cybernetics. All of them with the best facilities and high quality equipment to assure the most reliable results.

Centro de Bioplasmas performs research regarding:

- **Mass propagation of plants**
  - Micropropagation.
  - Somatic embryogenesis.
  - Artificial seeds.
- **Plant physiology**
  - Seed Germination.
  - Citrus Flowering.
  - Plant Growth Regulators.
  - Biochemistry and Plant Physiology.
- **Plant breeding**
  - Plant breeding.
  - Germplasm Studies.
  - Cariotypes and Isozymes Analysis.
  - Genetic Engineering.
- **Bioactive substances production**
  - Protease.
  - Secondary Metabolites.

The center has a branch for production of vitroplants of ornamental plants for export. Among species in phase of large scale propagation and development are:

- |               |                |             |
|---------------|----------------|-------------|
| -Ficus        | -Bougainvillea | -Ixora      |
| -Spatiphyllum | -Dwarf rose    | -Syngonium  |
| -Anthurium    | -Philodendron  | -Schefflera |
| -Pineapple    | -Banana        |             |



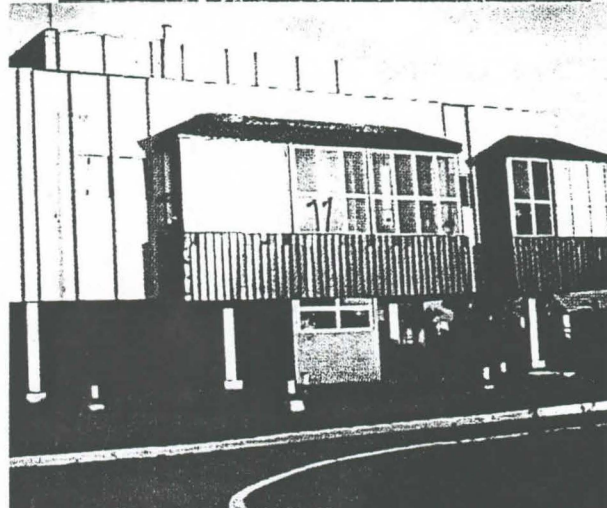
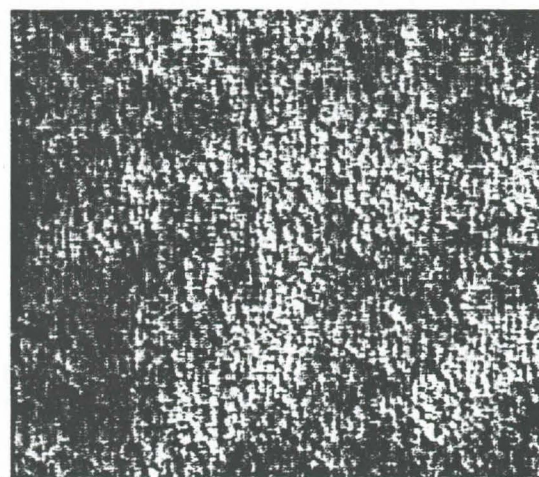
**Carr. Morón Km 9**

Ciego de Ávila  
CP 69450, CUBA.

**Telf.:** ( 53-33 ) 2-5768

**Fax:** ( 537 ) 33-5040

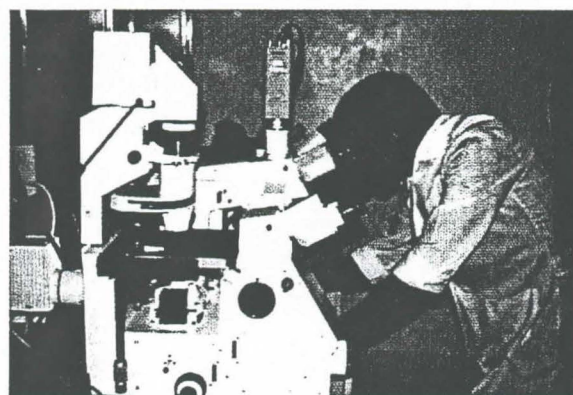
**E-mail:** cborroto@bioca.cig.edu.cu





El **Centro de Bioplant**as surgió en 1987 como un laboratorio de investigaciones y micropropagación de plantas frutales. En la actualidad el Centro de Bioplantas es una institución científica perteneciente a la Universidad de Ciego de Ávila, con los siguientes objetivos:

- Investigaciones sobre biología vegetal.
- Ofrecer asesoramiento científico-técnico a empresas.
- Producción de vitroplantas para el comercio internacional.
- Educación postgraduada.



El centro tiene una rama para la producción de vitroplantas ornamentales para la exportación. Dentro de las especies en fase de propagación en gran escala y en desarrollo están:

- |               |                   |             |
|---------------|-------------------|-------------|
| -Ficus        | -Bougainvillea    | -Ixora      |
| -Spatiphyllum | -Rosa enana       | -Syngonium  |
| -Anthurium    | -Philodendron     | -Schefflera |
| -Piña         | -Banano y Plátano |             |

Adscrito al Ministerio de Educación Superior, el centro desarrolla su trabajo científico organizado en seis laboratorios:

Bioquímica Vegetal e Inmunoquímica, Cultivo de células y tejidos, Genética Vegetal, Fisiopatología, Fitotecnia y Cibernética. Todos ellos cuentan con las mejores facilidades y un equipamiento de alta calidad para asegurar los mejores resultados. El Centro de Bioplantas realiza investigaciones en las siguientes líneas:

- **Propagación masiva de plantas**
  - Micropropagación.
  - Embriogénesis somática.
  - Semilla artificial.
- **Fisiología Vegetal**
  - Germinación de semillas.
  - Floración de los cítricos.
  - Reguladores del crecimiento vegetal.
  - Bioquímica y Fisiología vegetal.
- **Genética Vegetal**
  - Mejoramiento genético.
  - Germoplasma.
  - Cariotipo y análisis isoenzimático.
  - Ingeniería genética y transformación de plantas.
- **Producción de sustancias bioactivas**
  - Proteasas.
  - Metabolitos secundarios.



**Centro de Bioplant**as ( Bioplant Center ) comes forth in 1987 as a laboratory of micropropagation and research on fruit plants. Now, Centro de Bioplantas is an institution with the following main objectives:

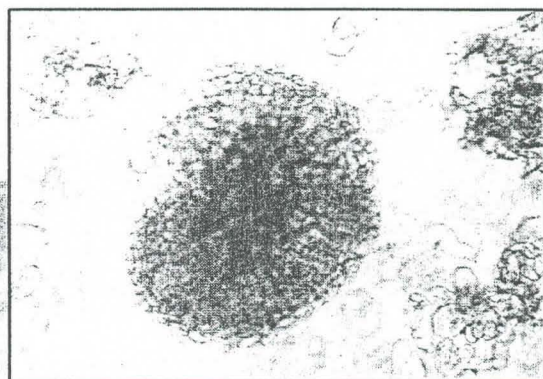
- Research regarding plant biology.
- To offer scientific-technical advice service to production enterprises.
- Production of vitroplants for international trade.
- Postgraduate education.

**Plaquette de présentation de l'IBP**

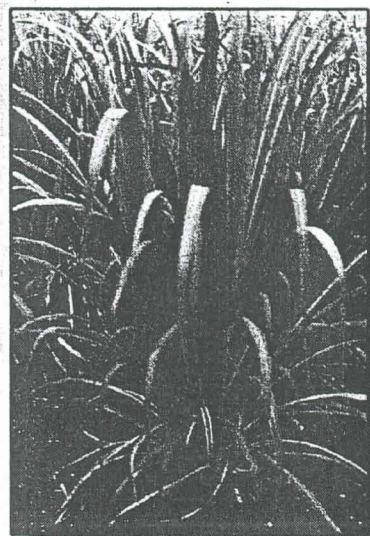


# INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA DE LAS PLANTAS

Investigaciones aplicadas  
desde el laboratorio...



... hasta el campo.



INSTITUTO DE  
BIOTECNOLOGÍA  
DE LAS PLANTAS



# INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA DE LAS PLANTAS

En los inicios de la década de los 80 un grupo de investigadores de la Universidad Central de las Villas comenzó los trabajos en Biotecnología Vegetal. Este fue el embrión de lo que hoy es el INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA DE LAS PLANTAS (IBP).

Los objetivos de trabajo del IBP abarcan el desarrollo y aplicación de técnicas biotecnológicas para la mejora genética de plantas y la producción de semillas de alta calidad.

## Direcciones de Trabajo

- Propagación masiva de plantas
- Mejoramiento genético
- Docencia de Postgrado

El IBP cuenta con un personal altamente calificado que a partir de la conformación de equipos multidisciplinarios asegura el éxito de los objetivos propuestos. Entre estos se encuentran: biotecnólogos, mejoradores, fitopatólogos, fitotecnistas, biólogos moleculares, entre otros.

Como un principio básico de trabajo en el IBP, desde la concepción de las investigaciones, está el carácter aplicado de las mismas, con el concepto **desde el laboratorio hasta el campo**. De esta forma se organiza en tres áreas principales:

## INVESTIGACIÓN

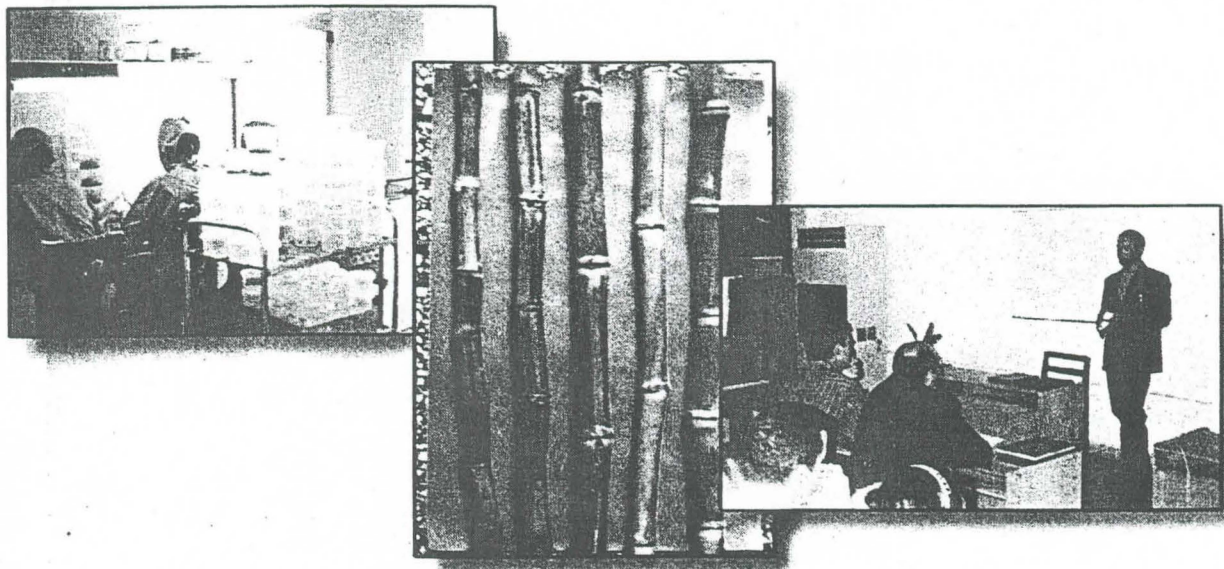
Cuenta con 7 laboratorios de investigación: Propagación de plantas, Variación somaclonal, Cultivo de células y tejidos, Biorreactores, Fitopatología, Ingeniería Genética, Biología Molecular y un Centro de Información Científico Técnica.

## PRODUCCIÓN

Esta área está formada por una biofábrica con capacidad de producción de 4 millones de vitroplantas anuales, un área de aclimatización de 6 500 m<sup>2</sup> con modernos invernaderos y una Estación experimental con 40 hectáreas.

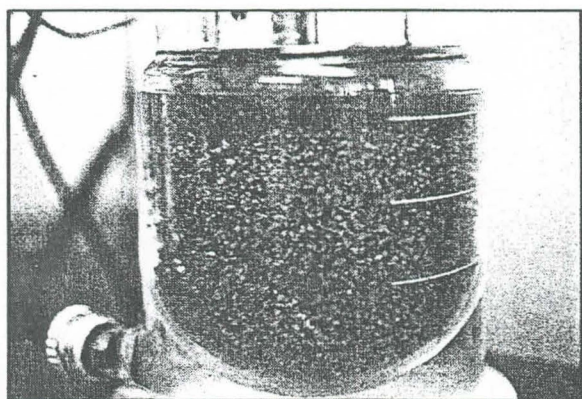
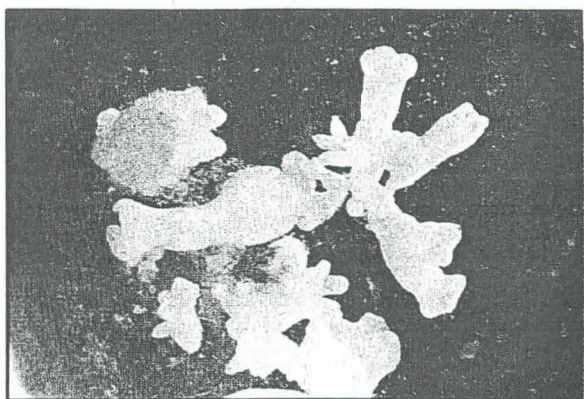
## APOYO TÉCNICO

Agrupar las secciones de Economía, Administración, Mantenimiento y Servicios.



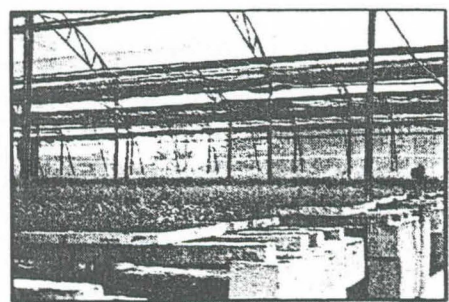
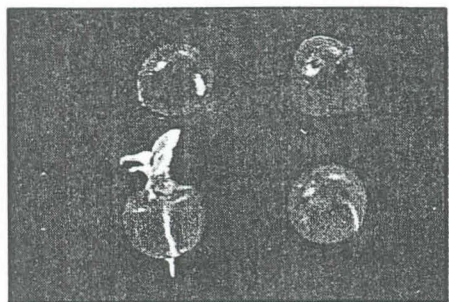


# PROPAGACIÓN MASIVA



Uno de los resultados más importantes del IBP ha sido el diseño de instalaciones para la propagación masiva de plantas que se ajusten a las características de países en vías de desarrollo y que aprovechen las ventajas climáticas de las regiones tropicales con un considerable ahorro de recursos y alta eficiencia económica.

Entre los aportes principales se encuentran: la definición e introducción del término BIOFÁBRICA que incluye un concepto de trabajo desde el laboratorio hasta el campo, modificaciones tecnológicas, así como otras medidas tecnológicas, organizativas y de control de la producción.



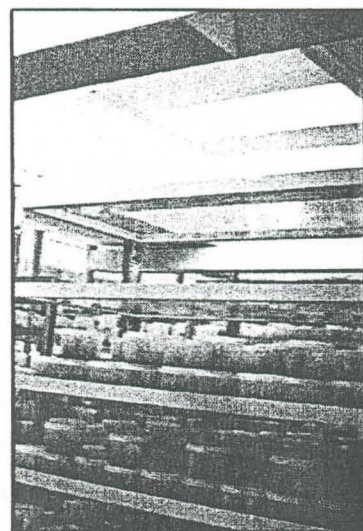
Todo esto ha permitido que Cuba posea una fuerte industria biotecnológica con capacidad de producción de 60 millones de vitroplantas al año en 15 instalaciones que se distinguen, por sus características, de las que se emplean comúnmente en el mundo.

El IBP ha tenido como principal tarea desde su creación la producción de la semilla original de papa que se requiere para el país. Se han realizado numerosos cambios a los esquemas clásicos de producción de semilla plantándose actualmente las vitroplantas directamente en el campo con lo cual se ha incrementado el número de minitubérculos por vitroplanta y se ha disminuido el número de multiplicaciones, con una considerable reducción en los costos.

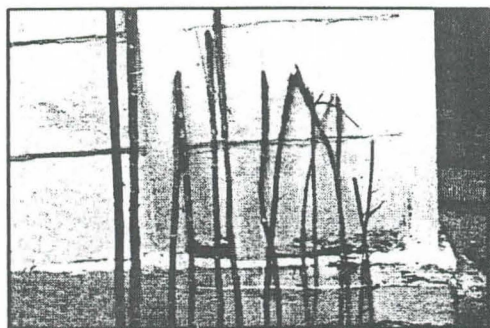
El IBP es un centro con un fuerte carácter de investigación-producción (I + D) por lo que mantiene estrechos vínculos con el sector productivo. Vitroplantas de plátanos, bananos y caña de azúcar son producidas masivamente con tecnologías desarrolladas en el Centro y se trabaja en la creación de nuevos protocolos para la producción de semillas de árboles frutales y forestales.



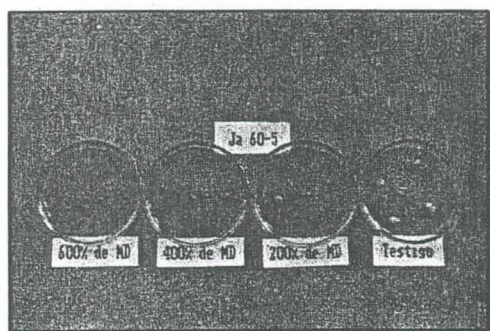
Paralelamente se investigan y ponen a punto nuevos métodos de propagación que incrementan la eficiencia productiva como son: el empleo de los sistemas de inmersión temporal, los trabajos de embriogénesis somática hasta su escalado en biorreactores y la obtención de semillas artificiales. Por otra parte se introducen nuevas modificaciones como el empleo de la esterilización química de los medios de cultivo.



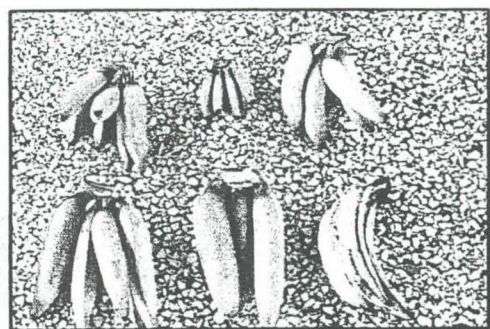
## MEJORAMIENTO GENÉTICO



La selección de plantas élites de árboles perennes, los cruzamientos para la selección de híbridos, la variación somaclonal, la mutagénesis *in vitro*, incluyendo la selección a nivel de células y tejidos con toxinas o cultivos filtrados y la transgénesis son todos los métodos empleados en el IBP para la obtención de nuevas variedades. Los mismos se aplican en los cultivos: caña de azúcar, plátanos, bananos, papa, papaya, café, frutales y forestales.



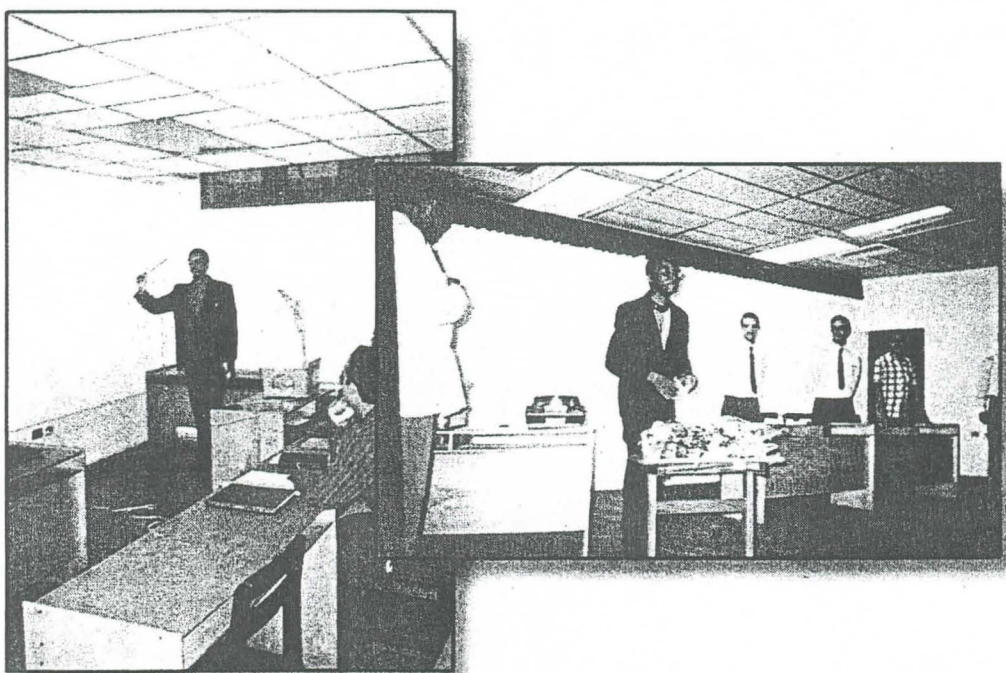
A partir de los resultados obtenidos en este campo existen en caña de azúcar cinco variedades reconocidas como tal y en fase de extensión en la producción. Además contamos con un elevado número de somaclones de caña de azúcar, plátanos, bananos, papa, híbridos de papaya y selecciones de plantas élites de guayaba, eucalipto y mamey, los cuales son de gran interés para el país. Además como resultado de los trabajos en Biología Molecular e Ingeniería Genética ya se evalúan en campo plantas transformadas con genes de interés aislados y clonados en el IBP.



## *DOCENCIA DE POSTGRADO*

El IBP ofrece cursos de superación teórico-prácticos, entrenamientos, así como programas de maestría y doctorado para la formación especializada de técnicos y profesionales que laboran en centros de investigación o producción vinculados al empleo de técnicas biotecnológicas para la propagación masiva o mejora genética de plantas.

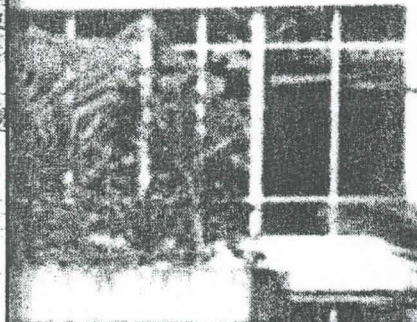
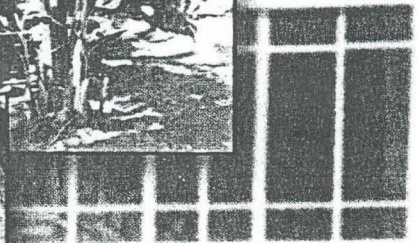
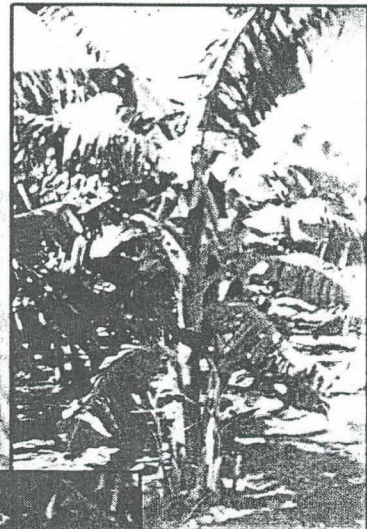
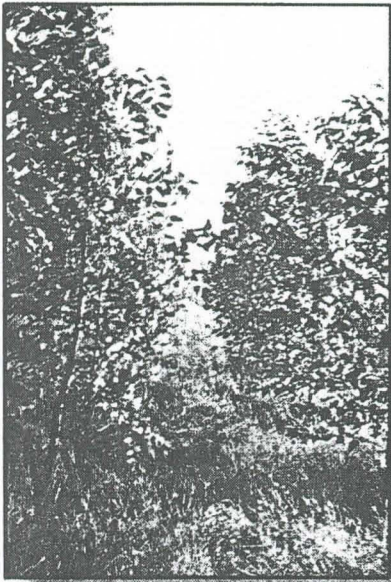
La alta calificación y experiencia de sus investigadores y profesores se ha puesto en función de formar al propio personal que trabaja en el Instituto así como a especialistas, técnicos y dirigentes que se ocupan de la propagación comercial en el país. Cientos de profesionales cubanos y de más de 30 países se han formado en el IBP. Por las propias características del centro la preparación que reciben los distintos especialistas a todos los niveles tiene junto a los aspectos teóricos un gran componente de aplicación de las técnicas biotecnológicas para la mejora genética y la propagación masiva de plantas.







**Instituto de Biotecnología de las Plantas**  
Carretera a Camajuaní Km 5 ½. CP 54 830.  
Santa Clara, Villa Clara, Cuba.  
Fax 53 (422) 81 329. E. mail: [perez@ibp.edu.cu](mailto:perez@ibp.edu.cu)



**Liste du germoplasme de fruitiers tropicaux de l'IICF**



RELACION DE FRUTALES TROPICALES EN EL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
DE CITRICOS Y OTROS FRUTALES DE CUBA, ~~MARZO 1998~~  
MAYO 1995

Familia y nombre científico	Nombre común	No. de accesiones
<b>ANACARDIACEAE</b>		
<i>Anacardium occidentale</i> L.	Marañón	3
<i>Mangifera indica</i> L.	Mango	258
<i>Spondias cytherea</i> Sonn.	Ciruela dulce	1
<i>Spondias mombin</i> L.	Jobo	1
<i>Spondias purpurea</i> L.	Ciruela colorada y amarilla	1
<b>ANNONACEAE</b>		
<i>Annona bullata</i> A. Rich.	Anón del cuabal	1
<i>Annona cinerea</i> Dunal.	Anón morado de Colombia	1
<i>Annona cherimola</i> Mill.	Chirimoya	2
<i>Annona cherimola</i> Mill. x	Atemoya	1
<i>Annona squamosa</i> L.		
<i>Annona glabra</i> L.	Bagá	1
<i>Annona montana</i> Macf.	Guanábana cimarrona	1
<i>Annona muricata</i> L.	Guanábana	3
<i>Annona muricata</i> L. x <i>A. sp.</i>	Guanábana híbrido de Muñoz	1
<i>Annona purpurea</i> Moc. et Sessé	Soncoya	1
<i>Annona reticulata</i> L.	Mamón	4
<i>Annona scleroderma</i> Saff.	Annona del monte	1
<i>Annona squamosa</i> L.	Anón	5
<i>Annona scaramuza</i>	Annona del monte	1
<i>Rollinia emarginata</i> Schlechtd.	Rolinia	1
<i>Rollinia mucosa</i>		1
Híbrido de <i>R. pulchinarvia</i>		1
<b>APOCYNACEAE</b>		
<i>Carissa arduina</i> Lin.	Amatongula	1
<i>Carissa congesta</i>	Carisa	1
<i>Carissa edulis</i> Vahl.	Ciruela del natal	1
<i>Carissa macrocarpa</i> A. DC.	Carisa gigante	1
<i>Carissa sp.</i>	Carisa	1
<b>ARECACEAE</b>		
<i>Cocos nucifera</i> L.	Cocotero	9
<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.	Palma de aceite	1
<b>BOMBACACEAE</b>		
<i>Adansonia digitata</i> L.	Baobab de la India	1
<b>CARICACEAE</b>		
<i>Carica papaya</i> L.	Fruta bomba	1

**CAESALPINACEAE**

<i>Cassia grandis</i> L.	Cañandonga	2
<i>Tamarindus indica</i> L.	Tamarindo	3

**CLUSIACEAE**

<i>Garcinia dulcis</i> (Roxb.) Kurz.	Garcinia	1
<i>Garcinia spicata</i>	Garcinia	1
<i>Garcinia tinctoria</i> (Choisy) W. F. Wight	Garcinia	1
<i>Mammea americana</i> L.	Mamey de Sto. Domingo	1
<i>Ochrocarpus africano</i> Oliver.	Mamey africano	1

**COMBRETACEAE**

<i>Terminalia catappa</i> L.	Almendra de la India	1
------------------------------	----------------------	---

**DILLEACEAE**

<i>Dillenia indica</i> L.	Dilenia	1
---------------------------	---------	---

**EBENACEAE**

<i>Diospyros blanco</i> DC.	Mabolo	1
<i>Diospyros digyna</i> Jacq.	Sapote negro	1
<i>Diospyros kaki</i> L.	Kaki del Japón	1

**ELAEOCARPACEAE**

<i>Muntingia calabura</i> L.	Capulí	2
------------------------------	--------	---

**ELEAGINACEAE**

<i>Eleagnus latifolia</i> L.	Eleagnus	1
------------------------------	----------	---

**EUPHORBIACEAE**

<i>Aleuritis moluccana</i> (L.) Willd.	—	1
<i>Antidesma bunioides</i> (L.) Spreng.	—	1
<i>Antidesma platyphyllum</i> H. Mann.	—	1
<i>Antidesma</i> sp.	—	1
<i>Phyllanthus acidus</i> (L.) Skeels	—	1

**FLACOURTIACEAE**

<i>Flacourtia indica</i> (Burm. F.) Merr.	Ciruela gobernadora	1
<i>Flacourtia inermis</i> Roxb.	Ciruela gobernadora	1
<i>Flacourtia jangomas</i> (Lour.) Raeusch.	Ciruela de Madagascar	1
<i>Flacourtia rukam</i> Zoll et Moritz	Ciruela gobernadora	1
<i>Flacourtia</i> sp.	Ciruela gobernadora	1

**JUGLANDACEAE**

<i>Juglans sp.</i>	Juglans	1
--------------------	---------	---

**LAURACEAE**

<i>Persea americana</i> L.	Aguacate	<del>98</del> 150
----------------------------	----------	-------------------

**LECYTIDACEAE**

<i>Lecythis dubia</i>	Lecythis	1
-----------------------	----------	---

**MALPIGHIACEAE**

<i>Byrsonimia crassifolia</i> (L.) Kunth in Humbol. et Bonpl.	Nance, Peralejo de sabana	2
<i>Malpighia glabra</i> L.	Acerola	20

**MIMOSACEAE**

<i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth.	Inga dulce	1
---	------------	---

**MORACEAE**

<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	Arbol del pan c/s	1
<i>Artocarpus integra</i> Merr.	Jaca	1
<i>Ficus carica</i> L.	Higo	1
<i>Morus alba</i> L.	Morera	1
<i>Morus nigra</i> L.	Mora negra	1

**MYRTACEAE**

<i>Eugenia malaccensis</i> L.	Pomarrosa de Málaga	3
<i>Eugenia guabija</i> Berg.	Makoa	1
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Cerezo de Cayena	1
<i>Myrciaria edulis</i> (Vell) Skeels	Jaboticaba	1
<i>Psidium friedrichsthalianum</i> (O. Berg.) Nied.	Guayaba del Salvador	1
<i>Psidium guajava</i> L.	Guayaba	106
<i>Psidium guineense</i> Swartz	Guayabita de Guinea	1
<i>Psidium littorale</i> Raddi	Guayabita fresa	1
<i>Psidium salutare</i> Berg.	Guayabita del Pinar	1
<i>Psidium sp.</i> (Panamá)	—	1
<i>Syzygium cuminii</i> Skeels	Jambolán	2
<i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston	Pomarrosa	1

**OXALIDACEAE**

<i>Averrhoa bilimbi</i> L.	Pepinillo chino	1
<i>Averrhoa carambola</i> L.	Carambola gigante, carambola ácida	1

**POLYGONACEAE**

<i>Coccoloba uvifera</i> (L.) Jacq.	Uva caleta	1
-------------------------------------	------------	---

## PROTEACEAE

<i>Macadamia ternifolia</i> F. Muell.	Nuez de Australia, Macadamia	1
---------------------------------------	------------------------------	---

## PUNICACEAE

<i>Punica granatum</i> L.	Granada	1
---------------------------	---------	---

## RHAMNACEAE

<i>Hovenia dulcis</i> Thunb.	Pasa japonesa	1
<i>Zyzyphus jujuba</i> Mill.	—	1

## ROSACEAE

<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) J. Lindl.	Nispero del Japón	1
<i>Fragaria ananassa</i> (Duch.)	Fresa	3
<i>Persica vulgaris</i> P. Mill.	Melocotonero	6

## RUBIACEAE

<i>Randia formosa</i> Schum.	Gardenia del Brasil	1
<i>Vangueria madagascariensis</i> J. F. Gmel.	Vangueria	1

## SAPINDACEAE

<i>Dimocarpus longan</i> Lour	Longán	1
<i>Litchi sinensis</i> Sonn.	Mamoncillo chino, Litchi	1
<i>Melicoccus bijugatus</i> Jacq.	Mamoncillo	1

## SAPOTACEAE

<i>Chrysophyllum caimito</i> Linn.	Caimito	4
<i>Manilkara sapota</i> (L.)	Nispero	17
<i>Pouteria campechiana</i> (H. B. K.) Bachni	Canistel	3
<i>Pouteria sapota</i>	Mamey colorado	1



**Projet régional**

**"Proyectos de certificación de Citricos en America Central y el Caribe  
con la asesoria y asistencia tecnica del IICF de Cuba"**

**Projet soumis au**

**"Perez-Guerrero trust fund for economic and technical cooperation  
among developing countries".**

29/03/99

**PGTF**

**THE PEREZ-GUERRERO TRUST FUND FOR ECONOMIC AND TECHNICAL  
COOPERATION AMONG DEVELOPING COUNTRIES**

**Proyectos de Certificación de Cítricos**

**en**

**América Central y el Caribe**  
**Con la Asesoría y Asistencia Técnica del IICF de Cuba**

**Abril 1999**



## Resumen

### Proyecto de Programas de Certificación de Cítricos en América Central y el Caribe

Cuba, a través de su Instituto de Investigaciones de Cítricos (IICF) ejerce la Coordinación General de la Red Interamericana de Cítricos (RIAC). Esta institución tiene como objetivo fomentar la cooperación técnica entre sus 27 países miembros en el continente. La coordinación nacional de cada país es ejercida por un coordinador designado por el gobierno del país en cuestión. La RIAC es una organización eminentemente técnica, con recursos provenientes principalmente de pequeñas donaciones de la FAO y de las propias instituciones que forman parte de la RIAC.

Desde 1996 la RIAC trabaja sobre un problema de carácter continental, de gran envergadura: *la rápida propagación de algunas enfermedades devastadoras de los cítricos que ya amenazan la sostenibilidad del cultivo en la región, con un impacto mayor en los países de menos recursos y/o tecnología.*

En el seno de la RIAC, con la colaboración de muchos de los mejores científicos mundiales en esta especialidad, se ha diseñado un proyecto para enfrentar el problema detectado. Las soluciones que se proponen son ciencia establecida y hay muchos ejemplos de su exitosa aplicación. La naturaleza del problema en las Américas hace que la efectividad de las medidas dependa de que sean adoptadas por todos o la mayor parte de sus países. Este proyecto ha sido presentado al Grupo Intergubernamental de Frutos Cítricos de la FAO, que en su última sesión en septiembre de 1998, en Valencia, España ha avalado dicho proyecto y recomentado altamente su implementación por todos los países involucrados.

Una pieza clave de la solución es la puesta en marcha en cada país de un programa nacional de certificación dirigido a producir y sembrar árboles sanos solamente y se impida el tránsito, importación o exportación de material de propagación de cítricos que no esté certificado libre de enfermedades. En este continente solo Argentina, Cuba, Estados Unidos (California y la Florida) y Uruguay tienen programas de certificación efectivos, Belice y Jamaica los están comenzando.

Para poner en marcha un programa de certificación es primordial contar con un proyecto nacional. Cada citricultura presenta especificidades tales que hacen indispensable un estudio y proyecto hecho a la medida y que cuente con el apoyo y la comprensión de todos los que deben ponerlo en práctica.

Es dentro de este último punto donde se inscribe de forma muy especial la solicitud al Fondo Pérez Guerrero. En esencia, el proyecto previsto y sus resultados son los siguientes:

1. Los objetivos del proyecto son: a) la confección de los programas de certificación en dos países de Centro América (Guatemala y Panamá) y uno en el Caribe (República Dominicana) y b) crear toda o una gran parte de la base metodológica para la confección de estos programas, lo que beneficiaría al resto de los países y facilitaría considerablemente la realización del resto de los proyectos. Este resultado también es de interés para todos los países del mundo que puedan enfrentar situaciones similares.
2. Cuba donará el equivalente a 75 mil dólares en asistencia técnica de personal altamente calificado del Instituto de Investigaciones de Cítricos y Otros Frutales (IICF), lo que asegura la asistencia técnica y asesoría necesaria. El IICF es autor y dirige el programa de certificación de cítricos de Cuba creado en 1980 y que lleva cerca de 20 años en funcionamiento. Sus resultados positivos son reconocidos internacionalmente.
3. Los tres países receptores aportarán el equivalente a unos 75 mil dólares (25 mil por país) en el trabajo de base que deben realizar como participantes del proyecto, principalmente en salarios del personal involucrado y otros gastos similares.
4. Se solicita el aporte del Fondo Pérez-Guerrero de 105 mil dólares, que se emplearán para cubrir algunos gastos seleccionados en los países receptores, transportación aérea, alojamiento, manutención y transporte de la asistencia técnica y asesoría, servicios especializados en la confección de materiales didácticos como videos, CD, folletos, etc. Comunicaciones, impresión de materiales para el proyecto y publicación de los resultados finales.
5. El término de ejecución del proyecto es de 12 meses a partir de concedido el financiamiento del Fondo Pérez-Guerrero.
6. Estos proyectos de certificación serían la base para la toma de decisiones por cada país y la implementación de algunas medidas con los medios y el personal nacional. Asimismo con el proyecto es posible una mejor gestión de asistencia financiera y técnica internacional para la implementación de algunos aspectos del proyecto que pudieran estar fuera del alcance nacional.
7. Esta experiencia de cooperación entre los países del área para la solución de un problema de carácter regional y los materiales básicos desarrollados tendrían un efecto multiplicador elevado, pues podrían servir de ejemplo y emplearse en el resto de los países donde este trabajo es necesario. Todo esto se inscribe dentro de los objetivos del Fondo Pérez-Guerrero.



**PGTF****THE PEREZ-GUERRERO TRUST FUND FOR ECONOMIC AND TECHNICAL  
COOPERATION AMONG DEVELOPING COUNTRIES**

**TITLE:** Citrus Certification Programs in Central America and the Caribbean

**SUBMITTED BY:** Instituto de Investigaciones de Cítricos y Otros Frutales, La Habana, Cuba.

**ENDORSED BY:** Ministries of Agriculture of Cuba, Dominican Republic, Guatemala and Panama

**BENEFICIARIES:** Dominican Republic, Guatemala, Panama and Cuba. Indirectly most of the countries in Latin America and the Caribbean

**DURATION OF THE PROJECT:** 12 months

**ESTIMATED STARTING DATE:** September 1, 1999.

**INPUTS BY PROPOSING INSTITUTIONS (USD):** 150,000

**INPUTS REQUESTED FROM THE PEREZ-GUERRERO  
TRUST FUND (USD):** 105,000

**DATE OF SUBMISSION:** April 15, 1999

## PEREZ-GUERRERO TRUST FUND

# PROJECT FOR CITRUS CERTIFICATION PROGRAMS IN CENTRAL AMERICA AND THE CARIBBEAN

### A. PROJECT JUSTIFICATION AND BACKGROUND

#### (a) The problem to be addressed and the pre-project situation

El proyecto va dirigido a incidir sobre un problema de gran envergadura y complejidad en los cítricos de todo el continente americano. Este problema ha sido detectado a través de numerosas instituciones científicas del continente y el trabajo de la Red Interamericana de Cítricos (RIAC). A continuación se expone el problema general, las medidas para enfrentarlo, los antecedentes y la situación actual.

#### **Importancia de los cítricos en la América Latina y el Caribe.**

América Latina y el Caribe producen la tercera parte de los cítricos del mundo. Brasil es el mayor productor mundial, México el 4to y Argentina el 8vo. Brasil ocupa también el primer lugar en la producción y exportación de jugos cítricos y su agroindustria es una importante fuente de trabajo e ingresos en divisas para el país. Argentina, Belice, Bahamas, Costa Rica, Cuba, Honduras, Jamaica, México y Uruguay son también exportadores de cítricos frescos y/o jugos. Los cítricos son una producción agrícola valiosa para el consumo interno en prácticamente todos los países de la región, que aportan nutrientes, crean empleos en áreas rurales y urbanas y contribuyen grandemente a la economía nacional. Además, como cultivo perenne, las plantaciones de cítricos conducen al establecimiento de agroecosistemas más estables que los cultivos anuales y por lo tanto más benignos para el medio ambiente.

#### **La producción de cítricos amenazada por la rápida diseminación de enfermedades**

*Las excepcionales condiciones fitosanitarias favorables de que ha gozado la mayor parte de los cítricos del continente americano ha ido cambiando considerablemente en la última década. La producción eficiente y continuada de cítricos en la región está amenazada por la rápida diseminación de varias enfermedades con un alto potencial destructivo y la invasión de vectores de otras enfermedades presentes o no en el continente. Los principales problemas son:*

- La *clorosis variegada* de los cítricos, reportada por primera vez hace algo más de una década, afecta hoy en un grado u otro a casi todos los huertos de Sao Paulo, Brasil, donde se concentra la mayor producción mundial de naranjas. Sus vectores, insectos saltahojas, se encuentran presentes en todo el continente. La *clorosis variegada* de los



*cítricos* (CVC) ataca fundamentalmente a las naranjas dulces. Los árboles enfermos pierden más del 60% de su potencial de fotosíntesis con respecto a los árboles sanos. La fruta producida no puede ser vendida en fresco ni utilizada en la industria. Esta enfermedad destruye los árboles menores de tres años.

- La diseminación de *Toxoptera citricida* por las islas del Caribe, Florida y la América Central en los últimos cinco años pone en peligro alrededor de 200 millones de árboles sobre patrón agrio en esa zona. Este pulgón es 25 veces más efectivo como transmisor de la *tristeza de los cítricos* que cualquier otro vector. El antecedente histórico (Argentina, Brasil, Venezuela) es que donde este insecto se establece mueren todos los árboles sobre patrón agrio en un lapso de unos diez años por la diseminación de razas severas de *tristeza de los cítricos*.
- La *cancrosis* de los cítricos, enfermedad bacteriana endémica en algunos países del Cono Sur, cuyo control a bajos niveles cuesta millones de dólares anuales a esos países, ha irrumpido tres veces en la Florida en los últimos diez años con un enorme costo de erradicación pues todos los árboles infestados y en una zona de seguridad alrededor de ellos deben ser incinerados. Su posible penetración en países de menos recursos pudiera provocar una situación muy difícil de controlar. La presencia en el continente americano del insecto *minador de la hoja de los cítricos* desde 1993, aparentemente facilita la propagación de las bacterias causantes de la cancrrosis por las lesiones que ocasiona en las hojas.
- *Diaphorina citri*, vector del *huanglongbin*, (*greening*) uno de los principales limitantes de la citricultura en Asia y algunos países de África, ha ido invadiendo muchos de los países del área en los últimos años, creando las condiciones para la importación de esa enfermedad.
- A esta lista de los peligros mayores debe de agregarse otras enfermedades que ya afectan algunas zonas en el continente (*leprosis*, *black spot*, *psorosis B*) pero que igualmente su diseminación representa un peligro creciente. Así como enfermedades reportadas en el resto del mundo que aún no han irrumpido en este continente (*greening*, *escoba de bruja*, *enanismo clorótico de los cítricos*), pero que igualmente son un peligro potencial debido al intenso tráfico internacional de personas y de mercancías y la presencia de vectores.
- Por otro lado, todas las enfermedades que hoy son transmitidas por la vía del injerto y por prácticas de vivero incorrectas (*psorosis*, *exocortis*, *concave gum*, *gomosis*, *xiloporosis*, nemátodos del suelo y muchas otras) causan pérdidas económicas importantes aunque no llegan a los daños de las mencionadas en primer lugar. La sustitución del agrio, tolerante a muchas de estas enfermedades, las hará cobrar una mayor importancia, sino se toman las medidas oportunas.

### **Situación de los países para enfrentar estas amenazas**

*La mayor parte de los países de América Latina y el Caribe no tienen hoy día la capacidad para solucionar esta situación y evitar incurrir en grandes pérdidas*

La vía principal de transmisión de las enfermedades en esta área es por el empleo de material de propagación infestado. Sólo tres países en América Latina y el Caribe producen material de propagación libre de enfermedades suficiente para sus necesidades y tienen programas efectivos de certificación para evitar la propagación de material enfermo

Otro problema importante es la insuficiencia y falta de capacidad en laboratorios de diagnóstico, medios y personal entrenado para determinar rápidamente la incidencia de enfermedades severas, así como para diseñar y poner en práctica programas efectivos de lucha.

Por último, pero de la mayor importancia, la mayor parte de los países de la región comparten largas fronteras con países vecinos, generalmente con intenso tráfico local de uno a otro país. La efectividad de las medidas que tome un país puede ser anulada si sus vecinos no las toman y se multiplica cuando sus vecinos persiguen iguales objetivos y esto se repite en cadena por todas las Américas.

### **Acciones de la RIAC para enfrentar la situación planteada**

La Red Interamericana de Cítricos (RIAC), es una red de cooperación técnica en la que participan 27 países del continente representados por sus coordinadores nacionales designados por los gobiernos respectivos. Esta Red actúa bajo la égida y en coordinación con la FAO. Cuba ejerce la coordinación general de la RIAC a la que fue elegida a finales de 1994. La RIAC trabaja desde 1996 con vistas a poner en práctica a escala continental un programa para la contención de las enfermedades de los cítricos que amenazan la sostenibilidad del cultivo en la región, especialmente en los países de menores recursos

Con el fin de enfrentar estas amenazas, en el seno de la RIAC, con el concurso de muchos de los mejores especialistas mundiales, se ha diseñado un proyecto que persigue tres objetivos básicos:

1. *Asegurar que solamente se emplee material de propagación de alta calidad libre de enfermedades mediante la creación en cada país de un programa de certificación obligatorio. De esa manera se elimina la diseminación de material enfermo por la vía del injerto, la forma más efectiva actual de dispersión de muchas enfermedades. Sólo tres países de la América Latina y el Caribe cuentan con programas de certificación efectivos, Argentina, Cuba y Uruguay. Han comenzado a implementarse programas de certificación en Belice y Jamaica.*
2. *Lograr la suficiente producción de yemas de óptima calidad libres de enfermedades de las variedades idóneas para abastecer de material de fundación a los programas nacionales de certificación previstos en el punto 1. Para ello se requiere de centros especializados capaces de rescatar y sanear el material de propagación autóctono valioso e importar las mejores variedades internacionales de una forma segura, sin peligro de introducción de nuevas enfermedades.*
3. *Elevar la capacidad de enfrentamiento a estas enfermedades en todos los países mediante la formación de una subred de cooperación técnica interamericana con posibilidad de realizar el diagnóstico y erradicación de focos, además de mejorar la efectividad de la lucha contra enfermedades seleccionadas en los lugares ya infestados para lograr su control efectivo y eventual erradicación.*

Los antecedentes principales de esta cuestión y las acciones que ha emprendido la RIAC se presentaron al *Grupo Intergubernamental de Frutos Cítricos de la FAO*, que sesionó a



finales de septiembre 1998 en Valencia España. En esa ocasión el Grupo Intergubernamental acordó lo siguiente sobre este tema.

***“19. El Grupo confirmó su ratificación de la propuesta reformulada presentada por la Red Interamericana de Cítricos (RIAC) sobre ‘Lucha integrada contra las plagas para la producción de cítricos en América Latina y el Caribe’. El Grupo manifestó su firme apoyo a la propuesta reformulada por la RIAC, por considerarla de la máxima prioridad para los cítricos en la región.”***

### **Principales dificultades para instrumentar las acciones propuestas**

El principal problema actual es lograr el conocimiento pleno sobre esta cuestión de todos los factores involucrados en cada país, de manera que puedan tomarse las decisiones oportunas y estas sean apoyadas por los productores. Aunque la RIAC y otras instituciones han hecho el máximo esfuerzo porque en cada país se tome consciencia del problema y se adopten medidas, el progreso es lento por falta de recursos con los cuáles poder llegar a productores y funcionarios. A pesar de todo, ya varios países tienen una comprensión adecuada y están deseosos de comenzar a actuar. Entonces el freno principal es la falta de conocimiento dentro del país para poner en práctica las medidas.

La cooperación internacional es indispensable, pues pocos países tienen los recursos humanos y tecnológicos necesarios para evaluar la real dimensión de su problemática y solucionar por sí solos todos los problemas. En su conjunto las organizaciones científicas y tecnológicas de la región atesoran la capacidad necesaria para lograr los objetivos planteados mediante la cooperación internacional bien organizada. Sin embargo, la organización de la cooperación internacional requiere de financiamiento de instituciones mundiales o regionales para costear los gastos de índole general y para estudiar sus situaciones concretas y formular programas nacionales y asistencia técnica a países de menos recursos

### **Los Programas de Certificación Nacionales, clave para comenzar a revertir la situación actual.**

Dentro de las medidas propuestas, la puesta en marcha de programas de certificación efectivos es la clave, pues desde la confección de los proyectos, la toma de decisiones para instrumentar dichos programas y su instrumentación se crea la consciencia, el conocimiento y se identifican claramente todos los problemas, lo que impulsa a la toma del resto de las medidas necesarias.

La puesta en marcha de programas de certificación implica que tanto los funcionarios gubernamentales, productores e instituciones técnicas y científicas de apoyo a la citricultura lleguen a conocer las amenazas que enfrentan y esto impulsa a la toma de medidas fitosanitarias efectivas y a la búsqueda de la cooperación internacional en los campos donde no hay suficiente conocimiento nacional.

Los programas de certificación una vez en marcha generan la necesidad de obtener material de fundación sano, que es posible importar en primera instancia de fuentes seguras ya

existentes y crea las condiciones para la creación de centros nacionales para la producción de este material en aquellas citriculturas más importantes.

La confección de los proyectos para los programas de certificación es de hecho el factor decisivo, pues permite definir con claridad las medidas de todo tipo que deben tomarse.

## **b) The expected situation at the end of the project**

*De tomarse las medidas propuestas, la seguridad fitosanitaria de los cítricos del continente mejoraría considerablemente.*

- No se continuaría propagando por el propio hombre enfermedades existentes a través de la propagación de material enfermo y se reduciría grandemente el peligro de importación de enfermedades exóticas por introducciones de material no certificado.
- Existirían los medios para la rápida detección de focos de enfermedades exóticas y el conocimiento para tomar las medidas oportunas.
- Se incrementaría considerablemente la efectividad del control de las enfermedades existentes.

## **c) How and by whom the results of the PGTF projects will be utilized (“target beneficiaries”)**

Se ha seleccionado a dos países de América Central, Panamá y Guatemala, y un país del Caribe, República Dominicana, para confeccionar los proyectos de certificación mediante la cooperación de instituciones de esos países con el Instituto de Investigaciones de Cítricos de Cuba, que aportaría mayor parte o toda la asesoría técnica indispensable mediante donación. La RIAC procuraría también asesoría técnica de otras fuentes en iguales términos que la facilitada por el IICF.

Los proyectos serían utilizados por todos los productores de cítricos de los países receptores. Asimismo, debido al método que se empleará en la confección de los proyectos, éstos se deben de constituir en modelos para facilitar la confección de otros proyectos no solamente en América Latina, sino también en el resto del mundo en situaciones similares. De esa manera se consigue un gran efecto multiplicador.

Para realizar este trabajo se emplearía no solamente la experiencia cubana en este campo, sino la experiencia de otros países del continente y de otras partes del mundo.

## **f) Arrangements for coordinating this project with other relevant efforts**

Este proyecto se integra como parte de toda la estrategia de la RIAC para lograr que se pongan en práctica las medidas de enfrentamiento al problema general descrito, ya que el Instituto de Investigaciones de Cítricos de Cuba ejerce su Coordinación General. Al mismo tiempo está en contacto y en plena coordinación

con las direcciones de la FAO que pueden generar proyectos sobre este cultivo y temática.

### **g) Capacity of the host institution**

El Instituto de Investigaciones de Cítricos y de Otros Frutales de Cuba es una institución científica que cuenta con 111 profesionales, de los cuales 67 son investigadores (15 doctores en Ciencias Agrícolas y Biología).

Uno de los avales más importantes del IICF es su gran experiencia en todo lo relativo a programas de certificación. Cuba tiene un programa de certificación de cítricos efectivo desde 1980. Esto es reconocido internacionalmente. Asimismo, el IICF es uno de las instituciones más calificadas mundialmente en cítricos en condiciones tropicales.

## **B. PROJECT OBJECTIVES**

**1. Proyectos de Programas Nacionales de Certificación con propuestas concretas y detalladas para instrumentar dichos programas en los países seleccionados.** El objetivo principal es la confección en cada país beneficiado de un programa nacional para la producción y propagación de material de propagación libre de enfermedades y de alta calidad. Estos programas están formados por los siguientes elementos principales:

- Viveros propagadores para multiplicación de las yemas básicas de alto potencial productivo, de las variedades comerciales deseadas por los productores y libres de enfermedades y viveros multiplicadores para incrementar éstas yemas hasta cubrir la demanda de los viveros comerciales.
- Viveros comerciales para la producción de plantines certificados libres de enfermedades listos para la siembra.
- Entidad o entidades certificadoras. (organización u organizaciones con recursos y personal para verificar y certificar todo el proceso de producción de yemas y de plantines)
- Regulaciones y leyes que prohíban la producción, venta y movimiento de material enfermo. Mecanismos efectivos de aplicación de dichas leyes y regulaciones.
- Órgano de gobierno colegiado entre autoridades estatales y/o estatales y los productores.

En cada uno de estos aspectos el proyecto tendrá un grado de detalle que permita su instrumentación posterior.

**2. Diagnósticos parciales sobre la citricultura de utilidad inmediata.** Para llegar al resultado expresado en No 1, se requiere un conjunto de estudios y trabajos que se



constituyen en objetivos en sí mismos. Sus recomendaciones, además de ser la base para el proyecto, permiten detectar problemas sobre los cuales actuar.

3. **Selección de la institución o instituciones que podrían realizar la función de certificadoras.** Debe de emplearse lo más posible las instituciones, instalaciones y personal ya existente. Sobre esta base determinar qué instalaciones y personal adicional se requeriría y las necesidades de capacitación del personal. Costos estimados de operación de las entidades certificadoras y forma en que estos gastos van a ser sufragados.
4. **Creación de una base metodológica y de divulgación para que sirva de guía en la confección de los tres programas iniciales y de otros programas similares en las Américas y en el mundo.**
5. **Creación y fortalecimiento de lazos de cooperación entre instituciones y especialistas de los cuatro países involucrados en el proyecto.** Este es otro objetivo importante, pues esta cooperación es necesaria también en otros problemas.

## C. PROJECT OUTPUTS

1. **Propuesta de Programa de certificación** Este proyecto definirá con claridad qué hacer y cómo hacerlo en:
  - Viveros propagadores y multiplicadores de las variedades comerciales deseadas por los productores y libres de enfermedades (viveros propagadores, y multiplicadores)
  - Viveros comerciales para la producción de plantines certificados libres de enfermedades listos para la siembra.
  - Propuesta de entidad o entidades certificadoras. (organización u organizaciones con recursos y personal para verificar y certificar todo el proceso de producción de yemas y de plantines). Medidas a tomar para prepararlas para esta tarea:
  - Regulaciones y leyes que prohíban la producción, venta y movimiento de material enfermo. Mecanismos efectivos de aplicación de dichas leyes y regulaciones.
  - Propuesta de órgano de gobierno colegiado entre autoridades estatales y/o estadales y los productores.
2. **Metodología para la confección de programas de certificación en América Central y el Caribe y base material para la diseminación masiva de la información y conocimientos** que se requieren para la toma de decisiones al respecto y para recolectar la información básica necesaria para hacer los programas.
3. **Diagnóstico de la situación agrícola de partida.** Aunque este diagnóstico es el punto de partida del proyecto de certificación a elaborar, es en sí un objetivo importante pues permite a los especialistas y asesores hacer recomendaciones para mejorar la citricultura del país.

4. **Marco institucional actual** y evaluación de sus posibilidades para asumir las tareas de entidades certificadoras. Determinación de las inversiones y medidas requeridas.
5. **Propuesta de Programa de acción y cronograma de tareas y medidas.** Tomando como base la propuesta de programa de certificación, recomendar las acciones que deben de realizarse enmarcadas en el tiempo, de manera que esta salida se constituya en guía para la implementación del programa.

## D. ACTIVITIES

1. **Preparación de la metodología para la confección del proyecto de programa de certificación y la base material para la diseminación masiva de información.** El IICF de Cuba designará, dentro de su personal más calificado, a un grupo de trabajo de 5 especialistas para la confección de los siguientes materiales:
  - (a) Video para exponer en detalle las amenazas para los citricos en toda la cuenca del Caribe (América Central, México, Flórida, Islas del Caribe)
  - (b) Video sobre el proceso de producción de plantas de vivero sanas.
  - (c) Video sobre qué es un programa de certificación y cómo trabaja una unidad certificadora.
  - (d) Metodología para el reconocimiento y diagnóstico preliminar de la situación agrícola. Metodología de encuesta agrícola. Planillas y material didáctico. Programa de computación para crear la base de datos y análisis posterior de dicha encuesta.
  - (e) Recopilación de las leyes y disposiciones regulatorias de los programas de certificación actuales en las Américas. Organización de dicha información en una base de datos fácilmente asequible.
  - (f) Planeamiento general de todas las acciones requeridas para la realización del proyecto.

El tiempo de confección de este material de base es de 6 meses, con el empleo de 30 semanas-especialista para la asesoría, aunque los puntos a, d y e deben estar en el plazo de tres meses, antes del comienzo del trabajo en cada país. La confección de los videos propiamente dichos, así como programas de computación y medios audiovisuales se contratará a organizaciones especializadas.

En los países en los cuales se van a confeccionar los programas de certificación, se efectuarán las siguientes actividades:

2. **Fase preparatoria y taller inicial.** Tiempo total 1 semana, 2 asesores. Los asesores de conjunto con las autoridades locales, llevarán a cabo las tareas preparatorias que culminarán en un taller durante 2-3 días en el que se expondrá las razones del programa de certificación y la forma en que se hará el trabajo, designándose el personal que trabajará en cada fase.

3. **Encuesta Agrícola.** Esta encuesta permitirá conocer la situación previa al proyecto. Se hará en dos fases:
  - a) Reconocimiento agrícola preliminar. 2 asesores, de conjunto con el personal local realizará la encuesta en una muestra representativa de plantaciones y viveros culminando en un informe preliminar. Tiempo 2 semanas. Los asesores una vez en Cuba se mantendrán al tanto de los trabajos, evacuarán consultas y supervisarán el trabajo utilizando el correo electrónico.
  - b) Encuesta agrícola de todas las plantaciones y viveros. Todos los resultados se recogen en bases de datos para su análisis. Informe final con conclusiones y recomendaciones.
4. **Evaluación del marco institucional para la certificación** y de las posibles instituciones responsables de la certificación. 1 asesor 2 semanas. De conjunto con el personal local se elaborarán las propuestas de qué institución o instituciones tienen las mejores condiciones para certificar, el cálculo de inversiones, los requerimientos de formación y capacitación de personal. Así como la propuesta de funcionamiento una vez que se implante el programa de certificación.
5. **Estudio de la base legal existente en el país y la información de otros programas de certificación.** Elaboración de las propuestas de cambios. Este estudio se realizará por el grupo de trabajo local.
6. **Propuesta de programa de certificación.** El programa de certificación de hecho se va conformando en la medida que se cumplen las diferentes actividades. Finalmente se confecciona un documento que resume los resultados del trabajo realizado, las conclusiones y las recomendaciones. El borrador será confeccionado por el grupo de trabajo local con asesoría extranjera y se circulará a todas las partes para su análisis y propuesta de modificaciones.
7. **Revisión final del borrador del programa y taller final.** Con la asesoría de dos especialistas se concluye y edita el documento final cuyos resultados se exponen en un taller final. El tiempo de asesoría en el país en esta fase es de 2 especialistas 1 semana.

## E. INPUTS

Los gastos principales necesarios son los de la asistencia técnica y asesoría. Se estima su valor total en 75,000 USD. En total se requiere de 70 semanas-especialistas o asesor. El trabajo preparatorio requiere de 30 semanas-especialista. El trabajo de especialistas y asesores en los países se estima en 40 semanas, de ellas la mitad de trabajo el país de origen en la preparación y seguimiento de los trabajos.

El trabajo de confección de videos, programas de computación especiales, etc, se contratará aparte a entidades especializadas en dichos trabajos.



Se estiman los gastos de cada país que recibe el proyecto en 25,000 USD, para cubrir gastos de salarios, transportación y viáticos del personal que trabajará en el censo agrícola y de contrapartida de la asesoría técnica.

El dinero solicitado al Fondo Pérez-Guerrero se empleará en transportación aérea y terrestre, alojamiento y viáticos de la asistencia técnica en los diferentes países, materiales y servicios, gastos seleccionados en los países donde se confeccionarán los proyectos y en el país que brinda la asesoría.

## F. PROJECT BUDGET

El costo total del proyecto para 12 meses de duración se estima en 255,000 USD.

Fondo Pérez-Guerrero	105,000
1. Preparación de la base metodológica y de divulgación (videos y otros)	20,000
2. Viajes por avión	10,000
3. Alojamiento y viáticos para asistencia técnica, censo y otros	40,000
5. Transportación terrestre para asesoría y censo agrícola	15,000
6. Confección informes finales, publicación	5,000
7. Administración, equipos y otros	10,000
Cuba	
Asistencia técnica	75,000
Guatemala, República Dominicana y Panamá	
Salarios y otros gastos locales	75,000
GRAN TOTAL PROYECTO	255,000

**Texte de l'article à paraître dans la revue du RIAC**

**Los recussos geneticos de citricos y la biotecnologia**

# LOS RECURSOS GENETICOS DE CITRICOS Y LA BIOTECNOLOGIA

Patrick Ollitrault<sup>1</sup> y Olga Mas Camacho<sup>2</sup>

<sup>1</sup> CIRAD-FLHOR , Station de Neufchateau , Capesterre Belle Eau, Guadeloupe, FWI

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones de Cítricos y otros Frutales (IICF), La Habana, Cuba

En los últimos años, se han desarrollado un conjunto de técnicas dentro de la Biotecnología Vegetal, que constituyen en la actualidad nuevas y poderosas armas de utilidad para los mejoradores de plantas y para el manejo apropiado de los recursos fitogenéticos.

## Biotechnología para optimizar el manejo de los recursos fitogenéticos

### *Saneamiento y diagnóstico*

El principal aporte práctico de las técnicas *in vitro* en cítricos ha sido sin dudas en el saneamiento de variedades mediante el microinjerto de ápices caulinares, que ofrece la posibilidad de obtener material de propagación libre de enfermedades transmisibles por injerto, y que constituye en la actualidad la vía por excelencia para disponer del material de propagación certificado que se lleva a las plantaciones comerciales, así como la forma de garantizar el estado sanitario apropiado de las accesiones que se conservan en un banco de germoplasma de cítricos, para su utilización en los programas de mejoramiento y para la conservación adecuada de estos valiosos recursos fitogenéticos.

Sobre la base del microinjerto, se ha propuesto un procedimiento *in vitro* para la importación de varetas de variedades de cítricos con garantías desde el punto de vista sanitario y reduciendo al mínimo la probabilidad de introducción de nuevas plagas o enfermedades al país receptor del material, lo cual ha facilitado el intercambio internacional de variedades en diversos países. Además de su implicación comercial, esta metodología permite el enriquecimiento de las colecciones de variedades, que constituyen la forma fundamental de conservación de los recursos genéticos de cítricos.

Paralelamente, el desarrollo de las técnicas bioquímicas y moleculares de diagnóstico permiten acortar considerablemente el tiempo para la certificación del estado sanitario de las accesiones. La primera fue la técnica ELISA para la detección del virus de la tristeza y la tendencia actual de estas técnicas es hacia el análisis molecular como electroforesis de viroides o amplificación de una secuencia específica del genoma de los patógenos mediante PCR.

### *¿Cómo y qué conservar?*

A pesar de que los recursos genéticos de cítricos se han conservado tradicionalmente mediante colecciones en campo, se desarrollan en la actualidad otras alternativas para la conservación de material basadas en la biotecnología. Existen resultados satisfactorios de conservación *in vitro* en condiciones de crecimiento lento y de crioconservación (en este



mismo número «Conservación de germoplasma de cítricos en nitrógeno líquido»), que deben tenerse en consideración por las ventajas que ofrecen. La crioconservación de callos embriogénicos ofrece la oportunidad de conservar los recursos fitogenéticos de cítricos en una forma directamente «utilizable» en los programas de mejoramiento a través de la hibridación somática. En diversos países existen bancos de callos crioconservados.

Por otra parte, novedosas técnicas como la citometría de flujo y los marcadores moleculares se están empleando en la actualidad en los cítricos, cada día con mayores posibilidades para optimizar la conservación de los recursos de este cultivo.

La citometría de flujo es una técnica que permite controlar el grado de ploidía de los individuos, lo cual es importante para la correcta caracterización de las accesiones de una colección, y adquiere relevancia cuando se trata de selecciones nucelares en las que puede alterarse el nivel de ploidía. De igual forma, con esta técnica puede monitorearse el nivel de ploidía del material que se conserve *in vitro* por cualquiera de sus variantes, para verificar regularmente su constitución, de modo que se asegure el mantenimiento del genotipo deseado.

La primera aplicación de los marcadores moleculares en el manejo de los recursos genéticos de cítricos fue en el control del origen nucelar, mediante análisis isoenzimático, de las líneas sanas resultantes de selecciones nucelares antes de que se desarrollara la técnica de microinjerto como vía de saneamiento. Los marcadores moleculares también han abierto un nuevo camino en la distinción de los genotipos de las diversas especies de cítricos pues con ellos pueden identificarse errores en las actuales colecciones, controlarse los cambios ocurridos y compararse accesiones de distintas colecciones de cítricos.

Los marcadores moleculares resultan particularmente útiles en la evaluación de la diversidad genética para estudios de filogenia y de la evolución de los cítricos. Por lo que constituyen una herramienta valiosa en la conservación de la diversidad genética máxima y por lo tanto, en el establecimiento de colecciones núcleo. Estudios realizados en esta dirección demuestran claramente la importancia que deberán tener el grupo de las mandarinas y el de los pummelos en tales colecciones núcleo.

Conjuntamente con su papel en la identificación, los marcadores deben ser especialmente considerados por sus posibilidades en la protección de las variedades locales y de las nuevas variedades que se obtienen por distintas vías.

## **Biotecnología y explotación de los recursos genéticos**

La explotación de los recursos fitogenéticos para crear nuevas variedades, también encuentra un gran apoyo en la biotecnología de nuestros tiempos.

La mutagénesis inducida y la variación somaclonal junto a los métodos de selección *in vitro* fueron de las primeras aplicaciones de las técnicas de cultivo de tejidos para aumentar la diversidad de algunas especies de cítricos para su mejoramiento, particularmente en búsqueda de resistencia a la salinidad y más recientemente para obtener variedades de limón tolerantes al mal seco. No obstante, es conveniente señalar que por estas vías no se pueden controlar las modificaciones del genoma y los resultados son bastante aleatorios, además de que las variantes obtenidas pueden revertir. Es por ello que se han desarrollado nuevas herramientas biotecnológicas para optimizar la explotación del germoplasma.

### *Hibridación somática*

Durante los diez últimos años, la hibridación somática de cítricos mediante la fusión de protoplastos ha permitido ampliar la base genética que puede utilizarse en el mejoramiento. Con esta técnica se pueden obviar las barreras de la reproducción sexual y explotar recursos genéticos de cítricos que presentan caracteres de resistencia o tolerancia a factores bióticos y abióticos y otros relacionados con la calidad del fruto, pero que son estériles, lo que impide su utilización en el mejoramiento convencional. Por otra parte, con esta técnica se evita la recombinación sexual que es una gran limitación para los programas en los que se pretenden genotipos que reúnan muchos caracteres favorables de ambos progenitores. En la actualidad se evalúan numerosos individuos obtenidos por esta vía en varios laboratorios de distintos países, con objetivos concretos de mejoramiento de patrones en búsqueda de resistencia o tolerancia a factores bióticos y abióticos: sequía, salinidad, frío, resistencia a enfermedades y otros. Además, estos programas de mejoramiento por hibridación somática permiten establecer un nuevo germoplasma a nivel tetraploide para su utilización en programas de creación de cultivares triploides.

### *Transgénesis*

La transgénesis es otra forma de explotar los recursos fitogenéticos para originar una nueva variedad con determinado carácter específico (ver en este número «Plantas transgénicas»). Actualmente se realizan investigaciones de cartografía molecular para la localización y aislamiento de genes que codifican para caracteres valiosos, por ejemplo, de resistencia a Tristeza, *Phytophthora*, nemátodos, salinidad así como también al carácter del enanismo, que en el futuro podrían ser transferidos mediante ingeniería genética a un genotipo específico. De esta manera, en el futuro el concepto de recurso genético podría moverse de genotipos complejos de cítricos (cultivares, patrones, especies de géneros afines...) a los genes en sí mismos una vez clonados.

### *Selección asistida por marcadores*

De los trabajos de cartografía molecular podrían resultar marcadores de selección revelados mediante PCR que permitirían estudiar en un estadio muy juvenil importantes poblaciones recombinantes (resultantes de cruzamientos convencionales) para identificar individuos que tendrían todos los genes de resistencia útiles en el caso de los patrones.

Considerando los resultados con que se cuenta y las tendencias actuales de desarrollo y empleo de la biotecnología en los cítricos, no existen dudas de que las técnicas *in vitro* y las técnicas de estudio y de manipulación del genoma han abierto nuevos horizontes a la adecuada conservación, evaluación y explotación de los recursos genéticos en este cultivo y que sus posibilidades se incrementan, particularmente en lo concerniente a los métodos tradicionales de mejoramiento con el apoyo de los marcadores moleculares, y en lo relacionado con la explotación directa de los genes de interés que pudiera resultar de la conjunción de la biología celular y la biología molecular a través de la transgénesis.

**Projet bilatéral de coopération**

**‘Création par hybridation somatique  
et sélection de nouveaux porte-greffe d’agrumes  
tolérants aux contraintes biotiques et abiotiques  
pour la promotion d’une agrumiculture durable dans les Caraïbes’**



# PROPOSITION DE PROJET DE COOPÉRATION FRANCO-CUBAINE

Date d'élaboration du projet : 20/5/99

## 1. Résumé

### Intitulé du projet :

Création par hybridation somatique et sélection de nouveaux porte-greffe d'agrumes tolérants aux contraintes biotiques et abiotiques pour la promotion d'une agrumiculture durable dans les Caraïbes.

### Pays ou zone géographique

Cuba, Guadeloupe, Corse

### Secteurs d'intervention - spécialités

Agriculture : agrumes, porte-greffe  
Amélioration des plantes : sélection, propagation, biotechnologies

### Description résumée du projet

L'agrumiculture constitue une filière agricole importante à Cuba et est une des principales productions de diversification pour les Antilles Françaises. Dans son ensemble, l'agrumiculture caribéenne est confrontée à de fortes contraintes abiotiques et à des contraintes biotiques croissantes. La dissémination de la Tristeza (maladie virale) sur toute la région contraindra, en particulier, dans la décennie à venir, à renouveler la quasi totalité du verger qui est greffé pour l'essentiel sur des porte-greffe très sensibles (bigaradier). La conjonction des différentes contraintes nécessite le développement et la sélection d'une nouvelle génération de porte-greffe cumulant les résistances à ces différents facteurs. Le présent projet se propose de fédérer les compétences des équipes cubaines et françaises dans le domaine des biotechnologies et de la sélection variétale afin d'évaluer un nouvel hybride somatique potentiellement intéressant pour la région Caraïbe et de générer une nouvelle gamme d'hybrides somatiques entre des variétés présentant une complémentarité des caractères de résistances aux contraintes locales.

Durée du projet : 3 ans

Concours financier global souhaité sur l'enveloppe bilatérale de l'ambassade de France à Cuba

224 000 francs

Nombre total :

de mois de stage souhaité  
de mission en France

7 mois  
1

de stagiaires en France  
de missions à Cuba

3  
4

Cout total du projet : 802 566 francs

## 2. Projet détaillé

### 2.1. Origine de la proposition-historique-antécédent

#### *Contexte de l'agrumiculture Caraïbienne*

L'agrumiculture Caraïbienne doit faire face à des problèmes phytosanitaires croissants ainsi qu'à des contraintes abiotiques fortes.

Ainsi en Guadeloupe, la Tristeza (principale maladie virale des agrumes) a été identifiée en 1998 et s'est rapidement répandue dans l'île en raison de la présence du vecteur le plus efficace (*Toxoptera citricida*). Les *Phytophthoras sp.* (maladie fongique) sont largement présents et causent des dégâts importants dans les zones humides. Les contraintes abiotiques sont également fortes en particulier sur les vertissols de la côte sous le vent et les sols calcaires de la grande terre.

De la même manière, à Cuba, la Tristeza constitue depuis 1993 une des principales menaces pour la citriculture et la présence de *T. citricida* aggrave cette situation. Les dommages causés par les *Phytophthora sp.* Et le Blight (maladie de dégénérescence dont l'agent causal est inconnu) sont en relation avec les porte-greffe utilisés. Parmi les contraintes abiotiques, la sécheresse occupe une place importante du fait de l'hétérogénéité des précipitations au cours de l'année et leurs faiblesses dans certaines zones.

Malgré les progrès réalisés ces dix dernières années dans le domaine de la lutte intégrée, les traitements appliqués pour contrôler les agents pathogènes constituent une charge économique encore importante ainsi qu'une menace sérieuse pour l'environnement. Ce contexte compromet le maintien d'une production d'agrumes de qualité à Cuba et limite le développement de l'agrumiculture en tant que diversification des monocultures de la canne et du bananier dans les Antilles Françaises.

Les porte-greffe peuvent apporter des résistances aux 4 principaux agents pathogènes des agrumes, présents dans les Caraïbes (le Citrus Tristeza Virus (CTV), les *Phytophthora Sp.*, les nématodes et le Blight) ainsi que des tolérances au calcaire, à la salinité et à la sécheresse. Toutefois aucun porte-greffe n'associe aujourd'hui les tolérances aux différentes contraintes biotiques et abiotiques rencontrées dans cette région. Il apparaît ainsi nécessaire de créer de nouveaux porte-greffe combinant l'ensemble des tolérances avec une attention particulière pour les contraintes spécifiques de Cuba et des Antilles Françaises.

#### *Stratégie pour la création et l'évaluation de nouveaux porte-greffe*

La création de tels porte-greffe s'inscrit dans les grands axes de recherche internationaux. Les méthodes traditionnelles d'amélioration par voie sexuée présentent certaines limites, liées à la polyembryonie, à l'incompatibilité sexuelle entre genres éloignés mais surtout à l'hétérozygotie élevée des géniteurs qui rend peu probable l'obtention de descendants recombinés associant la totalité des gènes favorables des deux parents. L'hybridation somatique permet de contourner la majorité de ces difficultés. Elle a été développée avec succès par l'équipe de l'IFAS (Floride) pour la création de porte-greffe et est aujourd'hui mise en oeuvre par le Cirad-Flhor.

Le développement de méthodes de multiplication végétative est essentielle pour permettre une évaluation large des hybrides obtenus et pour mettre rapidement les nouveaux porte-greffe à la disposition des agrumiculteurs. Les techniques de bouturage herbacé en pépinière sont appropriées pour la mise en place d'essais d'évaluation; en revanche la fourniture d'une grande quantité de matériel au développement requiert la mise en place de méthode d'amplification *in vitro*.

### ***Les travaux du Cirad-Flhor sur les porte greffe des agrumes***

Le Cirad-Flhor a une expérience de longue date dans le domaine de l'évaluation agronomique des porte-greffe traditionnels dans de nombreuses régions à travers le monde et en particulier en Martinique et en Guadeloupe. L'arrivée de la Tristeza dans les Antilles Françaises justifie toutefois le développement et l'évaluation de nouveaux porte-greffe pour les zones présentant des contraintes abiotiques fortes (sols calcaires, vertissols...)

Le Cirad-Flhor s'est également engagé sur l'hybridation somatique afin de développer des porte-greffe allotétraploïdes répondant aux contraintes des zones de production de ses partenaires (Bassin Méditerranéen, Caraïbe, Pacifique). Ce programme est aujourd'hui transféré sur la station Cirad Flhor de Guadeloupe. Il s'appuie sur une collection d'une trentaine de cals embryogènes d'agrumes dont l'aptitude à la régénération est nécessaire dans le cadre des fusions de protoplastes. Les hybrides somatiques sont ainsi créés par électrofusion de protoplastes (issus de cal embryogène pour au moins l'un des parents) suivie d'une sélection à l'aide de marqueurs moléculaires et de la cytométrie en flux.

Un premier hybride somatique inter générique prometteur a été obtenu entre *Citrus deliciosa* et *Poncirus trifoliata*. Cet hybride immun à la Tristeza est multiplié suivant une méthode de bouturage herbacé et est en cour d'évaluation, en partenariat sur un large dispositif multilocal, pour d'autres tolérances aux contraintes biotiques et abiotiques. Deux autres hybrides intergénériques ont été régénérés et pourront prochainement entrer dans le réseau d'évaluation.

### ***Les travaux de l'IICF sur les porte-greffe des agrumes***

A Cuba, des études sont réalisées depuis plus de trente ans sur l'amélioration des porte-greffe d'agrumes. De nombreux porte-greffe ont ainsi été évalués dans diverses conditions pedoclimatiques en combinaison avec différentes variétés. Ce travail a eu un impact important sur la diversification des porte-greffe pour l'agrumiculture cubaine. Toutefois, en particulier compte tenu de la présence de la Tristeza et du Blight, il n'a pas été possible d'identifier un porte-greffe idéal cumulant les tolérances à l'ensemble des contraintes biotiques et abiotiques actuelles.

Par ailleurs, des résultats intéressants ont été obtenus pour la micropropagation *in vitro* de plusieurs porte-greffe. L'IICF dispose ainsi d'un modèle pour la multiplication accélérée de différents génotypes d'agrumes. Les techniques développées permettent ainsi d'obtenir un bon taux de multiplication et des pourcentages élevés d'enracinement et d'acclimatation aux conditions extérieures. Elles devraient autoriser la multiplication des nouveaux hybrides somatiques pour les essais d'évaluations et pour la fourniture de plants aux agrumiculteurs.

Enfin des lignées de plantules *in vitro* et de cals morphogénétiques sont disponibles pour différentes espèces de Citrus et genres apparentés et peuvent être utilisés dans différents travaux de création variétale via les biotechnologies (et en particulier l'hybridation somatique)



## Références bibliographiques des équipes impliquées

### IICF

- Mas, O., N. del Valle, A. Ríos and M. Ramos. 1992. In vitro propagation of citremon. Proc. Intern. Soc. Citriculture, Vol. 1:318-320.
- Valle, N. del, A. González y O. Mas. 1992. Amilasas en árboles de cítricos con blight. Levante Agrícola XXXI(320) : 142.
- Mas, O., N. del Valle, A. Ríos y B. Morales. 1993. Propagación in vitro de patrones de cítricos. Centro Agrícola 20(3) : 86 - 90.
- Mas O., N. del Valle y A. Simón. 1996. Problemática de los patrones cítricos. En: Curso Integral de Citricultura.
- Mas, O. 1997. Técnicas modernas y objetivos de los programas de mejoramiento genético. En: Maestría en Citricultura Tropical.
- Mas, O. 1997. Formas de propagación de los cítricos, ventajas y desventajas. En: Maestría en Citricultura Tropical.
- Mas, O., N. Rodríguez, E. Diosdado, M. Morenza y A. Ríos. Posibilidades de las biotecnologías en el mejoramiento de los cítricos y su situación actual en Cuba. Agricultura Técnica (Chile)

### Cirad-Flhor

- Ollitrault P., X. Faure X. et F. Normand. 1992. Citrus Rootstocks Characterization with Bark and Leaf Isozymes; Application for Distinguishing Nucellar from Zygotic Trees. In Proc. of VII Int. Citrus Cong., Int. Soc. of Citriculture. 338-341.
- Ollitrault P., D. Dambier, F. Luro and C. Duperray. 1994. Nuclear genome size variations in *Citrus*. *Fruits*, vol. 49 n° 5-6, p 390-393
- Ollitrault P., D. Dambier, C. Cabasson, C. Teisson and F. Luro. 1994. Protoplast Fusion in *Citrus*. *Fruits*, vol. 49 n° 5-6, p 401-403
- Ollitrault P., D. Dambier, C. Cabasson, V. Allent et F. Engelmann. 1994. Optimized Management of Citrus Embryogenic Calli for Breeding Programmes. *Fruits*, vol. 49 n° 5-6 p 394-397.
- Cabasson C., P. Ollitrault, F.X. Côte., N. Michaux-Ferrière, D. Dambier, et C. Teisson. 1995. Characteristics of citrus cell cultures during undifferentiated growth on sucrose and somatic embryogenesis on galactose. *Physiologia Plantarum*. Vol 93 : 464-470.
- Luro F., F. Laigret, P. Ollitrault, and J.M. Bové. 1995. DNA amplified fingerprinting (D.A.F.), an useful tool for determination of genetic origin and diversity analysis in Citrus. *Hort. Sciences*. vol. 30 (5), p 1063-1067
- Luro F., M. Lorieux, F. Laigret, J.M. Bové et P. Ollitrault. 1995. Genetic Mapping of an Intergeneric Citrus Hybrid Using Molecular Markers. *Fruits*, Special on Topical Orchards. vol. 49 (5-6), p 404-408.
- Ollitrault P., Dambier D., Sudahono and Luro F, 1996. Somatic hybridisation in citrus; some new hybrids and alloplasmic plants. Proc. Int. Soc. Citriculture, (2) : 907-912.
- Ollitrault P., Dambier D., Froelicher Y., Bakry F. and Aubert B. 1998. Rootstock breeding strategies for the mediterranean citrus industry ; the somatic hybridization potential. *Fruits*, 53: 335-344.

## 2.2. Objectifs détaillés

Les problématiques de l'agrumiculture cubaine et des Antilles Françaises sont convergentes. Les équipes Cubaines et Françaises impliquées dans ce projet apportent par ailleurs des compétences et des atouts complémentaires tant dans le domaine des biotechnologies que dans celui de l'évaluation des hybrides obtenus. La mise en oeuvre d'un projet conjoint sur l'amélioration des porte-greffe des agrumes devrait ainsi créer une synergie permettant de progresser plus efficacement dans le domaine de la recherche et d'aboutir plus rapidement à une application au niveau du développement.

**Objectif global** : Promouvoir une agrumiculture durable par la création, par hybridation somatique, et la sélection de porte-greffe adaptés aux contraintes biotiques (phytophthoras, Tristeza, nématodes, blight) et abiotiques (alcalinité, sécheresse et salinité) présentes dans les Caraïbes, avec une attention particulière pour celles concernant directement Cuba et les Antilles Françaises.

### *Objectifs spécifiques et localisation des activités*

#### *- Objectifs scientifiques*

- Connaissance de l'hérédité des caractères de résistances aux contraintes biotiques dans le cadre de l'hybridation somatique
- Tristeza (Cuba, Guadeloupe)
- Phytophthoras (Cuba, Guadeloupe et Corse)
- Blight (Cuba)

#### *- Objectifs techniques*

- Création de nouveaux hybrides somatiques entre géniteurs présentant des caractères de tolérance complémentaires répondant aux contraintes Caribéennes (Guadeloupe avec collaboration Cuba)
- Optimisation des méthodes de multiplication *in vitro* des nouveaux hybrides pour la fourniture de plants pour la recherche et le développement (Cuba)
- Sélection de porte-greffe pour les zones de productions Cubaines et des Antilles Françaises par des expérimentations en milieux contrôlés (laboratoire, pépinière, domaines expérimentaux des organismes de recherche) et en milieu réel (chez les producteurs) : Cuba, Guadeloupe et Corse.

#### *- Formation et échanges scientifiques et techniques*

- Formation de chercheurs Cubains aux techniques d'hybridation somatique et de marquage moléculaire chez les agrumes
- Formation de chercheurs Français à la micropropagation *in vitro* des porte-greffe d'agrumes et familiarisation avec la symptomatologie du blight
- Echange de matériel végétal, publications et valorisation conjointes

### 2.3. Plan d'action – Calendrier

Les activités menées dans le cadre du projet peuvent être subdivisées entre 2 actions principales : (i) l'évaluation du potentiel de l'hybride somatique Flhorag1 (*P. trifoliata* X *C. deliciosa*), obtenu par le Cirad-Flhor, pour l'agrumiculture cubaine et Guadeloupéenne, (ii) la création de nouveaux hybrides somatiques entre des géniteurs porteurs des caractères requis par le contexte caribéen.

#### - Evaluation de l'hybride Flhorag1

2000

France (Guadeloupe)

- . Greffage du Flhorag1 avec 2 cultivars : Oranger Valencia Late et Lime Tahiti
- . Plantation des plants greffés sur deux parcelles : Vieux habitants (vertissols) et Grande terre (sol calcaire) en parallèle d'un essai de porte-greffe conventionnels tolérants à la Tristeza
- . Introduction et élevage d'un nouveau lot de plants de Flhorag1 et de ses parents en vue des essais de résistances à la Tristeza et au *Phytophthora*

France (Corse)

- . Evaluation de la résistance du Flhorag1 aux souches de *Phytophthora* locales en comparaison à ses parents
- . Evaluation de la compatibilité de greffage et du comportement agronomique du Flhorag1 avec 5 cultivars (Oranger Valencia Late, Citronnier Eureka, Clémentinier MA3, Pomelo Star Ruby et Kumquat Marumi)

Cuba

- . Introduction du Flhorag1 à Cuba sous forme de vitroplants
- . Amplification in vitro du Flhorag1
- . Acclimatation et élevage des plants de Flhorag1 ; préparation de plants des parents du Flhorag1 et de Citrumelo Swingle

2001

France (Guadeloupe)

- . Evaluation de la résistance du Flhorag1 aux souches de Tristeza et de *Phytophthora* locales en comparaison à ses parents
- . Suivi de la croissances des plantes au champ

France (Corse)

- . Fin de l'évaluation de la résistance au *Phytophthora*
- . Evaluation de la compatibilité de greffage et évaluation agronomique (suite)

Cuba

- . Greffage du Flhorag1 et du Citrumelo Swingle avec l'oranger 'Criollia' et le pomelo Marsh
- . Implantation des plants greffés sur 2 ou trois sites présentant des conditions pédoclimatiques différentes (salinité, calcaire, sécheresse) et permettant de tester la tolérance au blight
- . Evaluation en milieu contrôlé de la résistance du Flhorag1 aux souches de Tristeza et de *Phytophthora* locales en comparaison à ses parents

2002

France (Guadeloupe)

- . Fin de l'évaluation de la résistance à la Tristeza et au *Phytophthora*
- . Evaluation agronomique (suite)

France (Corse)

- . Evaluation de la compatibilité de greffage et évaluation agronomique (suite)

Cuba

- . Fin de l'évaluation de la résistance à la Tristeza et au *Phytophthora*



. Evaluation agronomique (suite)

- *Création et multiplication de nouveaux hybrides somatiques entre les lignées de cals embryogènes de Citrus du Cirad et les lignées de plantules in vitro de Poncirus, Citrange et Citrumelo de l'IICF*

2000

France (Guadeloupe)

- . Fusions de protoplastes entre les lignées de cals embryogènes de Citrus et les lignées de plantules *in vitro* de Poncirus, Citrange et Citrumelo d'origine génétique certifiée
  - Séjour de deux mois d'un chercheur Cubain en Guadeloupe : formation du chercheur cubain aux techniques d'hybridation somatique et de régénération à partir de protoplastes et formation des chercheurs et techniciens français à la micropropagation des agrumes *in vitro*
- . Régénération de plantules

2001

France (Guadeloupe)

- . Caractérisation des génomes nucléaires et cytoplasmiques des plantes obtenues par fusion de protoplastes en 2000 et nouvelle série d'hybridations somatiques
  - Séjour de trois mois d'un chercheur Cubain en Guadeloupe : formation du chercheur Cubain aux techniques de marquage moléculaire et cytométrie en flux
- . Acclimatation des plants hybrides

Cuba

- . Introduction des nouveaux hybrides somatiques
- . Amplification *in vitro* des hybrides en vue du programme d'évaluation

2002

France (Guadeloupe)

- . Caractérisation des génomes nucléaires et cytoplasmiques des plantes obtenues par fusion de protoplastes en 2001
  - Séjour de 2 mois d'un chercheur Cubain en Guadeloupe
- . Introduction et acclimatation du matériel végétal amplifié à Cuba en vue d'un programme d'évaluation ultérieur

Cuba

- . Amplification *in vitro* des hybrides (suite)
- . Acclimatation des hybrides en vue d'un programme d'évaluation ultérieur

## 2.4 Moyens mis en oeuvre

### Bourses

#### 3 bourses de stage pour 7 mois au total

2000 : 1 bourse pour 2 mois de stage en Guadeloupe (hybridation somatique)

2001 : 1 bourse pour 3 mois de stage en Guadeloupe (hybridation somatique et marquage moléculaire)

2002 : 1 bourse pour 2 mois de stage (caractérisation moléculaire)

### Matériel, documentation, fonctionnement

#### Matériel disponible

France :

Guadeloupe : laboratoire de CIV, de marquage moléculaire et cytométrie en flux, pépinière, domaine expérimental

Corse : laboratoire de phytopathologie, pépinière, domaine expérimental

Cuba

Laboratoire de CIV, de phytopathologie, pépinière, domaines expérimentaux

Complément d'équipement demandé pour Cuba pour la culture *in vitro* et le marquage moléculaire (appareil pour la production d'eau ultra pure, cuve d'électrophorèse et bain marie à circulation)

Cout global : 55 000 F

#### Fonctionnement

Le coût total de fonctionnement est de 137000FF et le concours financier demandé à l'ambassade de France de 83000F. Pour la partie française, le financement sollicité couvre les coûts de fonctionnement de laboratoire associé aux séjours des chercheurs cubains en Guadeloupe. Pour la partie cubaine il couvre le fonctionnement des activités de laboratoires réalisées à Cuba et les taxes cubaines liées aux échanges de matériel végétal.

	2000		2001		2002		Total	
	Cuba	France	Cuba	France	Cuba	France	Cuba	France
Fonctionnement total/pays	11000	30000	13000	40000	13000	30000	37000	100000
Fonctionnement total	41000		53000		43000		137000	
Financement sollicité/pays	9000	16000	9000	24000	9000	16000	27000	56000
Financement sollicité total	25000		33000		25000		83000	

### Missions

4 missions de chercheurs français à Cuba d'une semaine

2000 : point sur la multiplication *in vitro* et l'acclimatation des plants de Flhorag1 (1 mission)

2001 : suivi de la mise en place et du déroulement des évaluations du Flhorag1 (1 mission)

2002 : synthèse des essais de résistance à la Tristeza et au Phytophthora et programmation de la poursuite du projet (2 missions)

1 mission d'un chercheur Cubain en Corse en 2002 (synthèse de l'essai compatibilité de greffage)

### Moyens humains (mois/an)

	2000		2001		2002		Total/pays		Total	Coût (FF)	
	Cuba	France	Cuba	France	Cuba	France	Cuba	France		Cuba	France
Ingénieur	3	2	4	2	2	2	9	6	15	19980	300000
Technicien	1,5	2	3	2	2	2	6,5	6	12,5	10335	125000
Ouvrier	1	1	2	2	2	2	5	5	10	6750	62500
Total/pays	5,5	5	9	6	6	6	20,5	17	37,5	37065	487500
Total	10,5		15		12		37,5			524565	

### 3. Partenaires

#### 3.1 Maître d'ouvrage

<i>En France</i>	<i>A Cuba</i>
<p>Cirad Département des productions fruitières et horticoles : Cirad-Flhor</p> <p>Directeur : Jean Pierre Gaillard</p> <p>BP 5035, 34032 Montpellier Cedex1 Tel : 33 (0)4 67615861 Fax : 33 (0)4 57615871 Email : <a href="mailto:gaillard@cirad.fr">gaillard@cirad.fr</a></p>	<p>Instituto de Citricos y Frutales IICF</p> <p>Directrice : Maria del Carmen Perez</p> <p>Ave 7ma, 3005 entre 30 y 32, Miramar Playa, La Habana 11300 Tel : (53-7) 22 5526 Fax : (53-7) 24 6794 Email : <a href="mailto:iicit@ceniai.inf.cu">iicit@ceniai.inf.cu</a></p>

#### 3.2. Maître d'oeuvre

<i>En France</i>	<i>A Cuba</i>
<p>Cirad Département des productions fruitières et horticoles : Cirad-Flhor Station de recherche de Neufchâteau</p> <p>Directeur de la station : Claude Vuillaume Responsable du projet : Patrick Ollitrault</p> <p>Sainte Marie, 97130 Capesterre Belle Eau, Guadeloupe FWI Tel : (590) 863021 Fax : (590) 868077 Email : <a href="mailto:vuillaume@cirad.fr">vuillaume@cirad.fr</a>, <a href="mailto:ollitrault@cirad.fr">ollitrault@cirad.fr</a></p>	<p>Instituto de Citricos y otros Frutales IICF</p> <p>Directrice : Maria del Carmen Perez Responsable du projet : Olga Mas Camacho</p> <p>Ave 7ma, 3005 entre 30 y 32, Miramar Playa, La Habana 11300 Tel : (53-7) 22 5526 Fax : (53-7) 24 6794 Email : <a href="mailto:iicit@ceniai.inf.cu">iicit@ceniai.inf.cu</a></p>

#### 3.3 Autre partenaire

<i>En France</i>	
<p>Station de Recherche Agronomique, SRA Inra/Cirad</p> <p>Directeur de la station : Roland Cottin Correspondant du projet : François Luro</p> <p>20230 San Giuliano Corse Tel : 33 (0) 4 95595959 Fax : 33 (0) 495595937 Email : <a href="mailto:cottin@corse.inra.fr">cottin@corse.inra.fr</a>, <a href="mailto:luro@corse.inra.fr">luro@corse.inra.fr</a></p>	



## 4. Plan de financement

	2000	2001	2002	Total
<b>1. France</b>				
<b>a) ambassade</b>				
<b>Stages</b>				
Bourses	10000	15000	10000	35000
Voyages	3000	3000	3000	9000
Matériel	40000	15000		55000
Fonctionnement	25000	33000	25000	83000
<b>Missions</b>				
Frais de séjours	5000	5000	15000	25000
Voyages	3000	3000	11000	17000
Personnel	0	0	0	0
<b>Sous total</b>	<b>86000</b>	<b>74000</b>	<b>64000</b>	<b>224000</b>
<b>b) Cirad-Fihor</b>				
<b>Stages</b>				
Bourses	0	0	0	0
Voyages	0	0	0	0
Matériel	0	0	0	0
Fonctionnement	14000	16000	14000	44000
<b>Missions</b>				
Frais de séjours	0	0	0	0
Voyages	0	0	0	0
Personnel	154167	166667	166667	487501
<b>Sous total</b>	<b>168167</b>	<b>182667</b>	<b>180667</b>	<b>531501</b>
<b>Total France</b>	<b>254167</b>	<b>256667</b>	<b>244667</b>	<b>755501</b>
<b>2. Cuba (IICF)</b>				
<b>Stages</b>				
Bourses	0	0	0	0
Voyages	0	0	0	0
Matériel	0	0	0	0
Fonctionnement	2000	4000	4000	10000
<b>Missions</b>				
Frais de séjours	0	0	0	0
Voyages	0	0	0	0
Personnel	10395	16350	10320	37065
<b>Total Cuba</b>	<b>12395</b>	<b>20350</b>	<b>14320</b>	<b>47065</b>
<b>3. Total</b>	<b>266562</b>	<b>277017</b>	<b>258987</b>	<b>802566</b>

## 5. Plan d'évaluation

### 5.1 Evaluation Ex-ante

Le projet s'appuie sur les infrastructures expérimentales (laboratoires et terrains) en place à Cuba, en Guadeloupe et en Corse. Le complément d'équipement demandé pour l'IICF doit permettre d'assurer un contrôle efficace de l'origine génétique du matériel végétal micropropagé et une meilleure stabilité de la qualité des milieux de culture *in vitro* pour la micropropagation des parents et des hybrides. L'ensemble des méthodes de fusions de protoplastes/régénération/sélection moléculaire des hybrides somatiques sont maîtrisées par le partenaire Français ; elle seront appliquées pour développer de nouveaux hybrides répondant aux contraintes spécifiques de la zone Caraïbe. Les méthodes de micropropagation *in vitro* des porte-greffe traditionnels maîtrisées par le partenaire Cubain seront adaptées et optimisées pour la multiplication des hybrides somatiques. Un hybride somatique préexistant obtenu par le Cirad-Flhor et présentant des caractéristiques prometteuses pour la région sera par ailleurs multiplié et évalué en conditions contrôlées et en verger. Les moyens humains nécessaires pour la réalisation du projet sont en place ; l'appui demandé dans le cadre de ce projet a essentiellement pour but de permettre l'accueil de chercheurs cubains en Guadeloupe pour la création /sélection moléculaire de nouveaux hybrides et autoriser l'échange des expertises des deux partenaires.

### 5.2 Plan d'évaluation du projet

*Evaluation scientifique et technique* : elle sera réalisée annuellement (i) à l'occasion des missions du responsable Français du projet et des stages des chercheurs cubains en Guadeloupe et (ii) par la rédaction, par chacun des partenaires, de rapports sommaires d'avancement des travaux tous les 6 mois. En fin de première et de seconde années, un rapport d'avancement détaillé sera présenté en parallèle du plan d'actions programmé dans le projet. Toute réorientation majeure découlant de ces bilans annuels sera soumise à la commission mixte. L'évaluation scientifique et technique s'attachera plus particulièrement au suivi : (i) de la multiplication du Flhorag1 *in vitro*, (ii) de la mise en place et de la bonne marche des essais d'évaluation du Flhorag1 (iii) de la mise en œuvre des nouvelles hybridations somatiques et de leur niveau de régénération.

*Partenariat* : l'ossature du projet repose sur l'intégration complète des activités entre les partenaires en termes d'échange et de multiplication de matériel ainsi que pour la création de nouveaux hybrides à l'occasion de séjours de Chercheurs Cubains en Guadeloupe. L'évaluation du partenariat découlera ainsi directement de l'évaluation scientifique et technique du projet.

*Comptabilité* : le suivi comptable des engagements, réalisés sur la dotation de l'ambassade de France, sera réalisé par les services de comptabilité de chaque partenaire et un bilan comptable avec fourniture des pièces justificatives sera établi à la fin de chaque année en concordance avec le plan de financement fourni au début du projet.

### 5.3 Evaluation finale des résultats

Les responsables français et cubain du projet réaliseront conjointement l'évaluation finale du projet à l'occasion de visite des différents sites d'expérimentation (Cuba, Corse, Guadeloupe) qui permettront :

- De faire le bilan complet des essais en pépinière et au champ et d'en tirer les conclusions sur l'hérédité des caractères étudiés ; ces résultats serviront de base à la rédaction de publications communes soumises à des revues internationales et permettront d'établir les bases objectives pour l'utilisation de l'hybride Flhorag1 dans des actions de développement.
- De réaliser l'inventaire des hybrides obtenus et de leurs niveaux de régénération
- De réaliser l'inventaire du matériel végétal amplifié et distribué sur les différents sites
- De juger du caractère opérationnel du transfert des techniques de marquage moléculaire à Cuba.

Sur la base de ces résultats un plan de valorisation du matériel végétal et de poursuite de la coopération franco-cubaine dans ce domaine sera établi.

**Liste des documents ramenés à l'occasion de cette mission**

Pérez Ponce J.N., 1998. Propagation y mejora genética de plantas por biotecnología. Ed., Santa Clara, Cuba, Instituto de Biotecnología de plantas, 1998. 400p.

Martínez-Montero M.E., González-Arno M.T., Borroto-Nordelo C., Puentes-Díaz C. and Engelmann F. 1998. Cryopreservation of sugarcane embryogenic callus using a simplified freezing process. *Cryo-Letters* 19, 171-176.

González-Arno M.T., Márquez Ravelo M., Urra Villavicencio C., Martínez-Montero M.E., and Engelmann F. 1998. Cryopreservation of pineapple (*Ananas comosus*) apices. *Cryo-Letters*, 19, 375-382.

Escalona Morgado M. 1999. Propagation de la Pina (*Ananas comosus* (L.) Merr.) en sistemas de inmersión temporal. Resumen de tesis por el grado de doctor en ciencias agrícolas. Universidad de Ciego de Avila. 27 p.

IICF. 1999. Proyectos de certificación de Cítricos en América Central y el Caribe con la asesoría y asistencia técnica del IICF de Cuba. Projeť soumis au 'Pérez-Guerrero trust fund for economic and technical coopération among developping countries'. 14 p.



## ***Résumé des points forts de la mission et des perspectives de collaborations***

Cette mission a permis de conforter les liens avec l'Instituto de Investigacion en Citricos y otros Frutales et de visiter deux autres centres de recherche impliqués dans les biotechnologies sur les espèces fruitières (le Centre Bioplantas à Ciego de Avila et l'Instituto de Biotecnologia de las Plantas -IBP- à Santa Clara).

L'intégration des activités des universités, des centres de biotechnologie et des Biofabricas (unités industrielle de production de vitroplants) est remarquable et permet une appropriation très rapide des avancées de la recherche par le développement. Les contraintes économiques ont par ailleurs conduit les Biofabricas vers des voies de micropropagation originales que les cubains exportent aujourd'hui dans divers pays d'Amérique latine. Ainsi, l'investissement fort du pays dans les biotechnologies, les ressources humaines très importantes dans le domaine de la recherche, l'approche très finalisée et intégrée des activités de recherche et de développement ainsi que la volonté politique marquée d'être très présent dans la coopération régionale (LAC) font de Cuba un partenaire de choix dans le domaine de l'amélioration des plantes. Ceci est également vrai, d'une manière plus large, pour l'agrumiculture, pour laquelle la très forte implication de l'IICF dans le réseau RIAC (sous l'égide de la FAO) confère à cet organisme un rôle central dans la coopération régionale.

Les visites réalisées à Bioplantas, à l'IBP et à l'IICF ont fait ressortir une bonne complémentarité entre les travaux des instituts cubains et ceux du Cirad-Flhor. D'une manière générale, les premiers disposent d'une très bonne maîtrise des techniques *in vitro* tandis que le Cirad possède des acquis importants dans le domaine de l'analyse du génome qui reste peu développé à Cuba mais pour lequel un fort intérêt a été manifesté par les interlocuteurs cubains. Les axes de collaboration suivants ont pu être dégagés:

**Ananas :** intérêt du Cirad-Flhor pour les travaux de Bioplantas sur les haplométhodes et la cryoconservation d'apex. Intérêt de Bioplantas pour les techniques d'analyse du génome (cytométrie en flux et marqueurs moléculaires). Un premier stage de deux semaines en Guadeloupe d'un chercheur cubain sur la caractérisation du génome du matériel androgénétique pourrait être réalisé à l'automne 1999 dans la perspective du montage d'un dossier de postdoc.

**Papayer :** intérêt du Cirad-Flhor pour les travaux de micropropagation et de transformation génétique pour la résistance au Ringspot Virus (PRSV) développés par l'IBP, ainsi que pour le programme d'hybridation interspécifique de l'IICF pour l'introggression de gènes de résistance au PRSV. Intérêt des organismes cubains pour le programme du Cirad-Flhor sur la résistance à la bactériose et le développement de marqueurs moléculaires. Perspective de montage d'un projet entre les trois organismes visant à développer des variétés associant les résistances au Ringspot Virus et à la bactériose.

**Agrumes :** montage avec l'IICF d'un projet bilatéral soumis à l'ambassade de France pour la création par hybridation somatique et la sélection de porte-greffe pour les Caraïbes. Perspective de montage avec l'IICF d'un projet FAC avec Cuba, la République Dominicaine, Haïti et les Antilles françaises pour la promotion d'une agrumiculture durable dans les Caraïbes.

**Fruitiers divers** (avocatier, goyavier, manguier) : possibilité d'appui du Cirad-Flhor pour les techniques d'analyse du génome dans le cadre des programmes de caractérisation du germoplasme ou de manipulation de la ploïdie menés par l'IICF.

